

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



Bc. Tereza Brzobohatá

**Latitudinální trend v rychlosti růstu per
a koncentrace steroidních hormonů v peří ptáků**

Latitudinal trend in feather growth rates
and steroid hormone concentrations in avian feathers

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Školitel: doc. Mgr. Tomáš Albrecht, Ph.D.

Konzultanti: Mgr. Marie Kotasová Adámková
MVDr. Oldřich Tomášek, Ph.D.

Praha, 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 10.8. 2018

Podpis

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat všem, kteří mi při psaní této práce pomáhali. Svému školiteli Tomášovi Albrechtovi děkuji za výběr zajímavého tématu, profesionální přístup a vstřícné připomínky. Marii Kotasové Adámkové jsem vděčná za veškeré konzultace a rady poskytované v příjemném přátelském duchu, díky kterým jsem si ještě více oblíbila Brno. Oldřichovi Tomáškoví a Lukášovi Bobkovi děkuji za ochotu a pomoc zejména při analýze dat. V neposlední řadě můj dík patří Honzovi, Radušce, Kubovi, Viki, mamce a všem rodinným příslušníkům, kteří při mně stáli i v těžkých chvílích, a svou přítomností mě vždy drželi nad vodou.

Abstrakt:

Životní strategie ptáků lze rozlišit na pomalé, charakterizované většími investicemi do budoucí reprodukce, a rychlé, charakterizované většími investicemi do aktuální reprodukce. Koncept pace-of-life syndromů označuje koevoluci životních strategií a souvisejících fyziologických, imunologických a behaviorálních znaků. Ptáci z tropických oblastí oproti ptákům z mírného pásu vykazují pomalejší životní strategie (delší péče o mláďata, pozdější dospívání, menší snůšky, pomalejší metabolismus). Podél latitudinálního gradientu byly u tropických ptáků zaznamenány snížené investice do množství (hmotnosti) celkového opeření. Zůstává však nejasné, zdali existuje latitudinální trend i v samotném růstu per, a zdali je růst per pomalejší u tropických druhů. Tropičtí ptáci mají nižší bazální hladiny kortikosteronu a testosteronu, nicméně dostupné studie jsou založeny převážně na analýzách hormonů z krevní plazmy. Prvním cílem této diplomové práce bylo vyhodnotit rozdíly v investicích tropických (Kamerun) a temperátních (ČR) pěvců do rychlosti růstu ocasních per metodou komparativní ptilochronologie. Druhým cílem diplomové práce byla analýza koncentrací steroidních hormonů vybraných temperátních (ČR) pěvců z peří pomocí HPLC/MS. Při kontrole na délku pera a tělesnou hmotnost byly zjištěny pomalejší růstové rychlosti u kamerunských druhů. Zároveň dálkoví subsaharští migranti vykazovali stejné růstové rychlosti jako temperátní rezidenti a migranti na krátké vzdálenosti. Tyto výsledky naznačují, že růstová rychlost ocasního peří stoupá podél latitudinálního gradientu směrem od rovníku k temperátní zóně, a že peří stejné délky roste tropickým pěvcům oproti jejich temperátním protějškům déle. Analýza HPLC/MS detekovala kortikosteron i testosteron ve všech analyzovaných perech. Analýza hladin hormonů vybraných zástupců českých pěvců vykazovala vysoké hodnoty opakovatelnosti i přes relativně nízké náklady peří a velkou variabilitu v koncentracích hormonů mezi levými a pravými pery. Koncentrace hormonů se mezidruhově lišily, nicméně nebyl zjištěn vztah mezi koncentracemi a ptilochronologickými znaky per, patrně z důvodu limitovaného vzorku. Zjištění, že tropickým ptákům roste ocasní peří pomaleji, může prohloubit dosavadní znalosti o životních strategiích ptáků podél globálního latitudinálního klimatického gradientu. Kombinace ptilochronologie a nové metody analýzy hormonů z peří může představovat efektivní nástroj pro studium investic do růstu peří v kontextu s latitudou souvisejících pace-of-life syndromů.

Klíčová slova: komparativní analýza, kortikosteron, růstový proužek, HPLC, životní strategie, ptilochronologie, pace-of-life syndrom

Abstract:

Avian life histories range along the axis from slow to fast, with slow life histories being characterized by greater investments in future reproduction, and fast by greater investments in current reproduction. The concept of pace-of-life syndromes refers to the coevolution of life strategies and related physiological, immunological and behavioral traits. Avian species from tropical areas are characterised by slower life histories (longer parental care, later maturation, smaller clutches, reduced metabolic rate) when compared to temperate zone species. Within this latitudinal gradient, investments in the total amount (weight) of body feathers have also been shown to be reduced in tropical birds. It remains unclear, however, whether feather growth itself follows this latitudinal pattern, and is slower in tropical species. Tropical birds have lower basal levels of corticosterone and testosterone, however available studies are based mainly on analyzes of hormone concentrations from plasma. The first aim of this diploma thesis was to evaluate differences between tropical (Cameroon) and temperate zone (the Czech Republic) passerine species in investments in tail feather growth by using methods of comparative ptilochronology. The second aim of the diploma thesis was to analyze concentrations of steroid hormones from feathers in selected temperate zone (Czech) passerine species by using approaches based on the HPLC/MS method. When controlled for feather length and body weight, feathers showed slower growth rates for Cameroonian species. At the same time, sub-Saharan migrants exhibited the same growth rates as temperate residents and short distance migrants. These results suggest that the tail feather growth rate increases along the latitudinal gradient, from the equator towards the temperate zone, and feathers of the same length grow longer in tropical passerines than in their temperate zone counterparts. The HPLC/MS analysis detected steroid hormones, namely corticosterone and testosterone, in all analysed feathers. Hormone concentrations analysis of selected species of temperate zone passerines showed high repeatability values despite relatively low sample sizes and relatively high variability in hormone concentrations between left and right feathers. Concentrations of feather steroid hormones differed at interspecific comparison, however, the relationship between the concentrations and the ptilochronological parameters of the feather was not revealed, probably because of a limited sample size. To conclude, our finding that tropical birds grow tail feathers slower can deepen existing knowledge of changes in bird life histories along the global latitudinal climatic gradient. The combination of ptilochronology and new methods of hormone analysis from feathers could provide an effective tool for studying investments in feather growth in the context of latitude associated pace-of-life syndromes.

Key words: comparative analysis, corticosterone, feather growth bar, HPLC, life history traits, ptilochronology, pace-of-life syndrome

OBSAH

1. ÚVOD	1
1.1 Představení systému – tropičtí vs. temperátní ptáci	3
1.2. Srovnání životních strategií ptáků v tropech a temperátu	4
1.2.1. Pace of life syndromy	5
1.2.1.1. Investice do reprodukce	6
1.2.1.2. Rychlost růstu	10
1.2.1.3. Velikost křídel ptačích mlád'at při opuštění hnízda	12
1.2.1.4. Hmotnost opeření	13
1.2.1.5. Koncentrace steroidních hormonů	14
1.2.1.6. Rychlost metabolismu a velikost orgánů	18
1.3. Peří	20
1.3.1. Stavba pera	20
1.3.1.1. Obrysové peří	20
1.3.1.2. Prachové peří	21
1.3.2. Růst pera	22
1.3.3. Růst peří a migrace	23
1.4. Ptilochronologie	25
1.4.1. Princip metody	25
1.4.2. Vztah růstových proužků s fotoperiodou a cirkadiánními rytmy	27
1.4.3. Fluktuace v asymetrii	29
1.4.4. Výhody metody	29
1.4.5. Růst peří jako POLS u ptáků	30
1.4.5.1. Růst peří a metabolismus	31
1.5. Steroidní hormony v peří	33
1.5.1. Kortikosteron	33
1.5.2. Testosteron	34
1.5.3. Analýza hormonů z peří a rozdíly a výhody oproti analýze z krve	34
1.5.3.1. Analýza z krevní plazmy	35
1.5.3.2. Analýza z peří	36
1.5.4. Techniky analýzy hormonů	38
1.5.4.1. Radioimunologické a enzymatické analýzy	38
1.5.4.2. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC/MS)	39
2. CÍLE PRÁCE	42
3. MATERIÁL A METODIKA	44

3.1. Studovaná území a sběr dat	44
3.1.1. Odchyty ptáků	45
3.1.1.1. Přítomnost juvenilních jedinců	46
3.1.2. Typy migrace	46
3.1.3. Typy pelichání	46
3.2. Ptilochronologická analýza	47
3.3. Analýza hladin hormonů z peří	48
3.4. Statistická analýza	49
3.4.1. Taxonomická analýza	50
3.4.2. Fylogenetická analýza	50
3.4.3. Analýza opakovatelnosti	52
4. VÝSLEDKY	53
4.1. Ptilochronologická analýza	53
4.1.1. Vliv pohlaví a klimatu na růstovou rychlost rhachis	53
4.1.2. Vliv latitudy na délku rhachis	54
4.1.3. Vliv latitudy a délky rhachis na růstovou rychlost rhachis	58
4.1.4. Vliv latitudy na hmotnost pera	60
4.2. Analýza hladin hormonů	61
4.2.1. Opakovatelnosti v měřeních levých a pravých per	61
4.2.2. Koncentrace hormonů v perech	62
4.2.2.1. Mezidruhové rozdíly v koncentracích hormonů	63
4.2.3. Mezidruhové rozdíly v růstových rychlostech	64
4.2.4. Mezidruhové rozdíly v délce rhachis	64
4.2.5. Vztah mezi koncentracemi hormonů a růstovými rychlostmi per	65
5. DISKUZE	66
5.1. Ptilochronologická analýza	66
5.2. Analýza hormonů	69
6. ZÁVĚR	73
Zdroje	75
Přílohy	82

1. ÚVOD

Základními rysy způsobu života každého organismu jsou jejich životní strategie, které jsou charakterizovány kompromisem mezi investicemi do aktuální a budoucí reprodukce. Protože jsou životní strategie selektovány podmínkami prostředí, v každé oblasti převažuje strategie, která je pro dané prostředí nejvýhodnější. Mnoho aspektů životních strategií ptáků souvisí se vzdáleností od rovníku neboli latitudou (Ricklefs 2000, Martin et al. 2006). Ptáci rozmnožující se v tropech vykazují v porovnání s ptáky mírného pásma „pomalejší“ životní strategie podél tzv. *slow-fast* kontinua. Pečují o svá mláďata delší dobu, později dospívají, mají menší snůšky, žijí déle a mají celkově pomalejší metabolismus. Oproti tomu druhy temperátní žijí „rychleji“; mají početnější snůšky, rychlé dospívání, kratší délku života a rychlejší metabolismus (Skutch 1976, Russel 2000, Møller et al. 2017).

Z principů *slow-fast* kontinua vychází koncept *pace-of-life* syndromů, označující koevoluci životních strategií a souvisejících fyziologických, imunologických a behaviorálních znaků. Intenzita metabolismu je úzce spjatá s dostupností potravy, přičemž nutriční kondice jedince se může projevit na kvalitě opeření (Grubb 2006). Vnitrodruhové studie ukazují, že s klesající dostupností potravy klesá rychlost metabolismu a peří rostoucí v období nedostatku potravy dorůstá kratších rozměrů (Wiersma & Verhulst 2005). Dostupnost potravy je v tropech sice celoročně stálá, ale v mírném pásmu díky sezonalitě prostředí nastávají období jejího nadbytku, což se může projevit v rozdílných investicích do opeření. Analýzou tzv. růstových proužků, které se během doby růstu na perách vytvářejí, je teoreticky možné zjistit, zdali se charakter růstu pera liší s latitudou. Pomalejší růst v tropech by pak mohl implikovat, že růst pera je součástí *pace-of-life* syndromů. Překvapivě, dostupné ptilochronologické studie jsou zaměřeny pouze na vnitrodruhové rozdíly, nebo na komparaci několika blízce příbuzných druhů (např. Grubb 2006, Langston & Rohwer 1996, Stratford & Stouffer 2001). Neexistuje dosud žádná srovnávací studie, která by se tomuto tématu věnovala napříč taxony a kontrastovala druhy žijící v tropech a temperátní zóně. V této práci se pokusím tuto mezeru alespoň částečně vyplnit.

Mezi komponenty *pace-of-life* syndromů patří také koncentrace hormonů, jakožto zásadní složky ovlivňující hlavní životní procesy. Dostupné studie u ptáků potvrdily latitudinální trend v koncentracích pohlavního hormonu testosteronu a nejvýznamnějšího

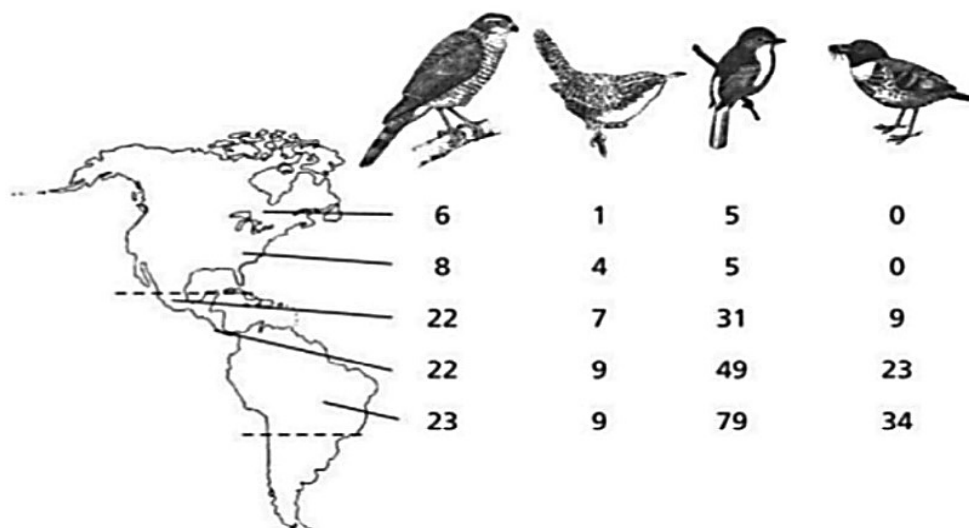
stresového hormonu kortikosteronu, s nižšími hladinami obou hormonů v tropech oproti mírnému pásmu (Hau et al. 2010). Tyto studie se ovšem týkají srovnání pěvců Severní Ameriky a tropické střední/jižní Ameriky, a jsou založeny na analýzách koncentrace hormonů v krevní plazmě. Hormony se však ukládají i v rostoucím peří, a jeho analýzou je tak teoreticky možné získat alternativní obrázek o hormonálním vyladění během celé doby pelichání.

Komparací vybraných komponent life-history znaků pěvců (Passeriformes) bude v této diplomové práci zhodnocen a diskutován latitudinální trend v investicích do opeření u ptáků dvou geograficky rozsáhlých a velmi odlišných regionů – tropické Afriky a temperátní Evropy. Jedním z cílů práce je analýza růstových proužků ocasních per vybraných druhů pěvců a srovnání růstových rychlostí těchto per metodou komparativní ptilochronologie. Mezi vybrané temperátní druhy bylo zahrnuto také několik dálkových migrantů, kteří prodělávají každoroční výměnu peří v tropické subsaharské Africe. Bude proto zhodnocen i vliv typu migrace a místa pelichání na růstové rychlosti ocasních per. Druhým cílem práce je analýza hormonů z peří vybraných druhů pěvců severního temperátu (Evropy). Pro tuto analýzu bude použita technika vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC/MS), která oproti jiným technikám vykazuje značné výhody a byla v minulosti využita k vůbec první analýze testosteronu z peří (Koren et al. 2012a). Stejný postup se ovšem u analýzy testosteronu dosud nepodařilo zopakovat, a proto bude použita modifikovaná metoda dosahující opakovatelnosti 79 % pro kortikosteron a 91 % pro testosteron (Adámková et al. in prep.). Analýza bude využita k následnému stanovení variability v hormonálních profilech a ptilochronologických znaků mezi pravým a levým ocasním perem a ke stanovení vztahu mezi koncentracemi hormonů a rychlostí růstu pera. Metodika může být v budoucnu využita k analýzám koncentrací hormonů v peří u tropických a temperátních druhů ptáků.

1.1. Představení systému – tropičtí vs. temperátní ptáci

Proč je vlastně srovnávání tropických a temperátních ptáků zajímavé? Odlišné charakteristiky tropického a mírného podnebného pásu předurčují rozdílné adaptace zde žijících živočichů. Směrem od rovníku k pólům se relativně stabilní tropické klima mění v sezónní střídání období nadbytku a nedostatku zdrojů. V tropech neexistuje zimní roční období s krátkými dny a teplotami kolem nuly. S tím souvisí i nepřítomnost migrace tropických ptáků – potrava je dostupná celoročně. Pouze někteří frugivorní ptáci migrují v rámci tropů altitudinálně (do různých nadmořských výšek) za účelem hledání potravy (Morton 1977). Tyto i další na první pohled prosté změny mají za následek vznik komplexních behaviorálních adaptací a životních strategií (life-histories), z nichž se v této práci budu zabývat již zmíněnými investicemi do opeření u skupiny pěvců.

Z dostupných informací o ekologii a chování ptáků je patrné, že modelovými organismy jsou často druhy jako například sýkora koňadra (*Parus major*), vlhovec červenokřídlý (*Agelaius phoeniceus*) nebo vlaštovka obecná (*Hirundo rustica*) atd., tedy zástupci typičtí především pro mírný pás. Přirozeně tak převládají tendence považovat výsledky pozorování těchto modelových druhů za obecně přijímanou „normu“. Na tropické ptáky a jejich způsob života naopak nahlížíme jako na něco výjimečného a bizarního. Je ovšem všeobecně známým faktem, že v tropech se vyskytuje větší množství druhů organismů než v severní temperátní zóně (Pianka 1966). Například na východě Kanady a Spojených států amerických žijí zástupci 5 rodů z čeledi tyranovitých (Tyrannidae), ale v tropické Brazílii celých 79. Některé skupiny ptáků (mravenčíkovcovití, Formicariidae) se v severním temperátu nevyskytují vůbec, v tropech jsou však hojní (Stutchbury & Morton 2001; Obr. 1).



Obrázek 1. Počty rodů v čeledích jestřábovití (Accipitridae), střízlíkovití (Troglodytidae), tyranovití (Tyrannidae) a mravenčíkovcovití (Formicariidae) z lokalit východní Kanady, severovýchodní části USA, Mexika, Panamy a Brazílie. Přerušované čáry značí hranici tropů (23° s.š. a 23° j.š.). Upraveno podle Stutchbury & Morton (2001).

Ptáci severního temperátu představují zlomek celosvětové ptačí diverzity. Jejich životní strategie se vyvinuly ze strategií majoritně zastoupených druhů ptáků celého světa. Nahlízet na sice dobře prostudované, ale přesto menšinově zastoupené druhy mírného pásu jako na „normu“ a na vhodné modelové organismy pro studium ptačí ekologie a jejich life-histories obecně může vést k zaujatým výsledkům. Toto informační zkreslení (tzv. *temperate zone bias*) je dáno nepoměrem v počtu studií vznikajících v různých geografických oblastech (Martin et al. 2012).

1.2. Srovnání životních strategií ptáků v tropech a temperátu

Aby bylo možné porovnat a kategorizovat životní strategie ptáků, je potřeba vyjmenovat jejich hlavní proměnlivé složky. Těmi jsou například hmotnost vejce, hmotnost mláděte v den vylíhnutí, počet vajec ve snůšce, inkubační doba, rychlost vývoje jedince, věk mláděte při prvním vylétnutí z hnízda, délka doby parentální péče, věk dosažení pohlavní dospělosti, počet snůšek za rok, délka intervalu mezi nakladením vajec v jedné snůšce, hmotnost dospělce, celkový věk dožití atd. (Trevelyan et al. 1990). Za klíčový life-history ukazatel je často považován poměr energie investované mezi přežívání, reprodukci a růst. Zde hrají roli určitá trade-offs. Není možné disponovat více znaky vyžadujících velké množství vložené

energie najednou, protože takové znaky by se mohly navzájem omezovat nebo dokonce vylučovat (Lack 1947). S těmito trade-offs a vzájemnými omezeními jednotlivých znaků souvisí tzv. *pace of life syndromy*.

1.2.1. Pace of life syndromy

V životních strategiích tropických a temperátních ptáků lze zaznamenat jasný trend. V tropech se ptáci chovají celkově „pomaleji“ než jejich příbuzní v mírném pásu. Tento fenomén popisují *pace of life syndromy*, které rozšiřují klasickou teorii o životních strategiích.

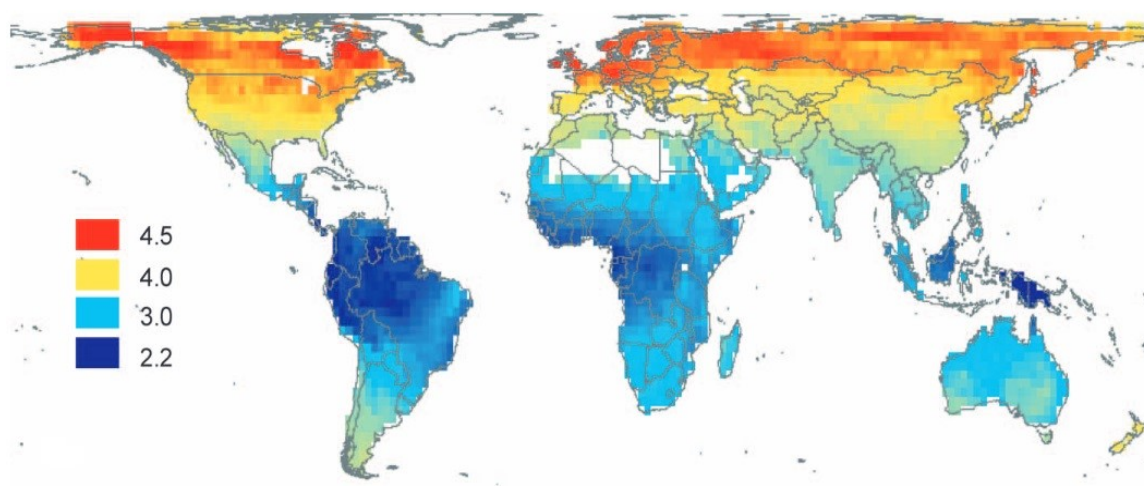
Pace of life syndromy (POLS; Ricklefs & Wikelski 2002) vysvětlují odlišné fyziologické, imunologické a behaviorální znaky u blízce příbuzných druhů žijících různou rychlostí života. Současně nepříbuzné druhy žijící ve stejných podmínkách vykazují podobné fyziologické, behaviorální a další adaptace. POLS vychází z konceptů r- a K-strategie a slow-fast life-histories kontinua. Na pomyslné škále jsou rozlišeny druhy na tzv. „pomalé“ s lepším přežíváním, sníženou reprodukcí, zdlouhavějším vývojem a pomalejším metabolismem; a na „rychlé“ s nízkou mírou přežívání, zvýšenou reprodukcí a rychlým metabolismem. Při komparaci tropických a temperátních ptáků lze konstatovat, že tropičtí zástupci spadají na „pomalý“ okraj kontinua a mluvíme u nich tedy o tzv. *slow pace of life*.

V následujících kapitolách budou shrnuty dosavadní poznatky o některých z výše zmíněných komponent u tropických a temperátních ptáků. Pokusím se tak nastínit nejpodstatnější trendy a také behaviorální a fyziologické adaptace, které jsou rozhodující pro pochopení rozdílných životních strategií ptáků v takto environmentálně odlišných regionech.

1.2.1.1. Investice do reprodukce

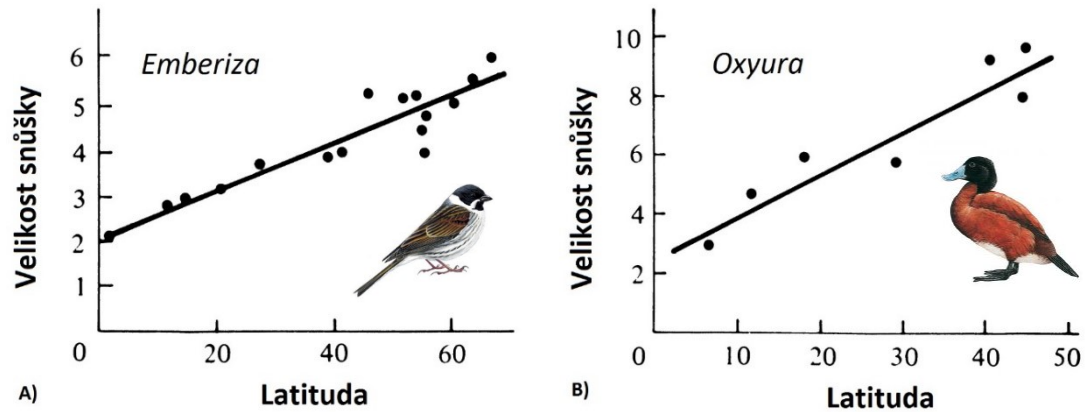
Velikost snůšky

Reprodukční výkonnost samice, jinými slovy velikost snůšky, je druhově specifická (Salthe 1969). Hmotnost a počet mláďat ve snůšce ovlivňují především ekologické faktory, jako je dostupnost potravy, teplota prostředí, predanční tlak a fyziologická omezení (Radder et al. 2008). Tendence tropických druhů ptáků k produkci menší snůšky oproti jejich temperátním příbuzným je vědcům známa již téměř dvě století. Počet vajec ve snůšce stoupá se vzdáleností od rovníku, přičemž tento jev platí jak u původně tropických druhů, které se postupem času začaly šířit do vyšších zeměpisných šířek, tak u druhů rozšiřujících svůj areál výskytu směrem k rovníku (Wagner 1957). Průměrnou globální velikost snůšky ilustruje mapa níže (Jetz et al. 2008; Obr. 2).



Obrázek 2. Geografická variabilita velikosti snůšek ve světě (Jetz et al. 2008).

Latitudinální gradient v počtu potomků je zřejmý také při komparaci příbuzných druhů v rámci rodu, a to jak u ptáků, tak například i u savců (Cody 1966). V monitorovaných hnízdech se snůškami vybraných druhů afrických, evropských a asijských strnadů rodu *Emberiza* z čeledi Emberizidae či celosvětově rozšířených druhů kachnic rodu *Oxyura* (Anatidae) byl prokázán pozitivní vztah mezi latitudou a počtem vajec (Obr. 3).



Obrázek 3. Velikost snůšky v závislosti na vzdálenosti od rovníku vybraných druhů ptáků rodu A) *Emberiza* a B) *Oxyura*. Každý bod reprezentuje jiný druh uvedeného rodu. Upraveno podle Cody (1966). Zdroj obrázků: [online].

Nejznámější hypotézou popisující problematiku velikosti snůšky je zřejmě Lackova hypotéza. Ta předpokládá, že ve snůšce je tolik mláďat, kolik jsou rodiče maximálně schopni uživit. Ustaví se středně velká snůška neboli *Lackova snůška*, obsahující optimální počet vajec, a výsledkem je tedy nejvyšší možný počet odchovaných potomků. Takto je maximalizovaná produkce snůšky, respektive i fitness rodičů (Lack 1947). Díky delším dnům ve vyšších zeměpisných šířkách mají ptáci během hnízdní doby více času ke shánění potravy pro mláďata a mohou jich tak vyvést více. Lackova teorie dnes tvoří jakýsi základ a mnohokrát byla upravena či rozšířena.

Rozšířením Lackovy teorie je teorie Ashmoleova. Ta předpokládá, že velikost snůšky zásadně ovlivňuje především sezonalita. V sezónnějším prostředí je vyšší úmrtnost jedinců během zimních měsíců. Hustota populací zde díky tomu není příliš vysoká, a potrava je tak pro každého jedince relativně lépe dostupná. Tropický klimatický pás vykazuje daleko slabší sezonalitu, než v je tomu v pásu mírném, díky čemuž jsou populace udržovány blízko nosné kapacity prostředí. Stručně řečeno: čím větší je rozdíl mezi minimální a maximální dostupností zdrojů během roku (tedy v sezonalitě), tím větší by měla snůška být (Ashmole 1967). Hořák et al. (2014) uvedli, že ačkoliv velikost snůšky může být ovlivněna mnoha faktory souvisejícími s produktivitou prostředí, poskytuje Ashmoleova hypotéza nejlepší vysvětlení pro počet vajec ve snůšce autory zkoumaných pěvců na území Jižní Afriky.

Další známou teorii navrhl Skutch (1949). Podle něj je velikost snůšky ovlivněna mírou hnízdni predace, která je tím větší, čím jsou rodiče na hnízdě aktivnější. Hnízdni predace může u tropických ptáků dosahovat až 80 % (Fogden 1972), což je hodnota odrážející nepřeborné množství a rozmanitost zde žijících predátorů. Vyšší počty mláďat vyžadují intenzivnější aktivitu rodičů, což vede k pravděpodobnějšímu přilákání predátorů. Vysoká míra hnízdniho selhání má za následek menší snůšky tropických ptáků.

Za povšimnutí stojí také „Prey Diversity“ hypotéza (Owen 1977) vysvětlující menší snůšky v nižších zeměpisných šířkách méně efektivním sháněním potravy pro mláďata kvůli velmi bohaté nabídce kořisti, zejména hmyzu, která znesnadňuje vytvoření si přesného search-image (tedy jakési mentální představy) hledané potravy. Shánění potravy pak trvá déle a znemožňuje tak uživení většího počtu potomků.

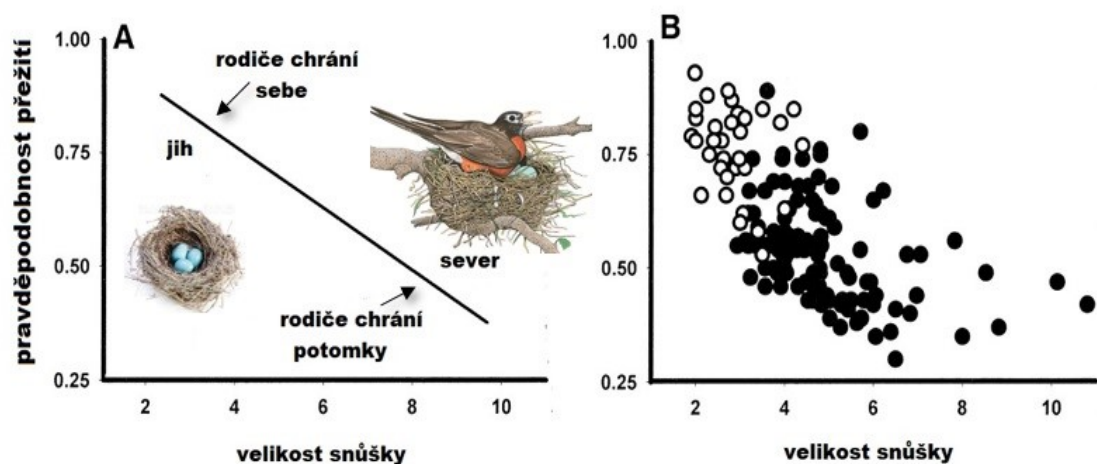
Trade-off mezi reprodukcí a přežíváním

S velikostí snůšky úzce souvisí investice rodičů do vlastního přežití. Když se objeví predátor, ptačí rodič stojí před rozhodnutím – utéct a zachránit sebe, nebo bránit mláďata? Odpověď obecně závisí na počtu potomků a pravděpodobnosti přežití dospělé. Tropičtí ptáci žijí déle než ptáci z temperátní zóny (Valcu et al. 2014, Muñoz et al. 2018). V případě velkého počtu mláďat (u druhů temperátních) je výhodnější riskovat a snůšku chránit. Hodnota fitness aktuální snůšky je totiž vysoká, zatímco pravděpodobnost dožití se další reprodukční události daleko nižší. Naopak u dlouhověkých druhů tropických, které mají mláďata méně, rodiče častěji volí možnost úniku, i kdyby to mělo stát život potomka. Šance na vyvedení nové snůšky jsou velké, na rozdíl od hodnoty fitness jednoho mláděte (Ricklefs & Wikelski 2002).

Rozdílné investice tropických a temperátních pěvců byly zaznamenány skrze experimentálně přidáný zdroj potravy různým druhům strnadců. V mírném pásu Kanady během hnízdniho období reagovali strnadcí zpěvní (*Melospiza melodia*) na bohatší potravní nabídku zvýšením úsilí do reprodukce. Rodičovské páry vykazovaly více rozmnožovacích pokusů, samice snášely průměrně o 18 dní dříve než kontrolní jedinci, snůška byla početnější a váha mláďat větší (Acrese & Smith 1988). Zástupci tropického regionu, strnadcí ranní (*Zonotrichia capensis*) z oblasti Ekvádorských And se ale při stejném zvýhodnění chovají

diametrálně odlišně. Experimentálně přidaná potrava do teritorií vyvolala během rozmnožovacího období i mimo něj reakci v podobě přepeřování dospělců. Takto energeticky náročná činnost, kterou pelichání představuje, svědčí o investici do vlastního přežití a do reprodukce budoucí, než do té aktuální (Class & Moore 2013).

Ghalambor & Martin (2001) testovali, zda je možné kompromis mezi reprodukcí a přežitím pozorovat také v obraně hnízda, a to u příbuzných druhů pěvců z jehličnatých lesů severoamerické Arizony a v národním parku El Rey v jihoamerické Argentině. Hnízdící rodiče s mláďaty byli vystavováni atrapám predátorů hnízd v podobě sojek rodu *Cyanocitta* a *Cyanocorax*, atrapě krahujce amerického (*Accipiter striatus*) alias predátoru adultů, a kontrolním tangarám rodu *Piranga* a *Thraupis*, které nepředstavují žádné nebezpečí. V experimentu ukázali, že pěvci hnízdící v nižších zeměpisných šířkách více riskují při obraně sebe samých, naopak jejich fylogeneticky příbuzní ze severního temperátu volí obranu cenné snůšky (Obr. 4).



Obrázek 4. Investice do vlastního přežití vs. do přežití potomků. Jihoamerické druhy pěvců (prázdné kroužky) produkují menší snůšky a při vystavení predátorům preferují vlastní přežití před ochranou hnízda. Naopak pěvci severního temperátu (plné kroužky) mají početnější snůšky, které také více brání. Upraveno podle Ghalambor & Martin (2001). Zdroj obrázků: [online]

Menší velikost snůšky tropických ptáků umožňuje rodičům více se věnovat jednotlivým mláďatům, což může pozitivně ovlivnit jejich schopnost konkurence a přežití. Young (1996) porovnával rodičovskou péči střízlíků zahradních (*Troglodytes aedon*) v tropech a v mírném pásu a zjistil, že tropičtí jedinci měli snůšky sice průměrně o 2,5 vejce menší než střízlíci z mírného pásu, o to více času ale věnovali jednotlivým fázím rozmnožovacího cyklu. Zvýšené rodičovské investice do kvality potomků u druhů z tropů

prokazuje delší inkubace vajec. Delší inkubace, a tedy delší vývoj, hraje velkou roli v zajištění vyšší pravděpodobnosti přežití v dospělosti (Martin 2002). Náchylnost k hnízdní predaci je sice v tomto případě větší, pokud ale mláďata přežijí, mohou mít kvalitněji vyvinutou imunitu a celkově jsou lépe připravená na budoucí nástrahy (Ricklefs 1992). Ptáci z tropů a mírného pásu jižní hemisféry o svá mláďata pečují déle než ptáci ze severního temperátu (Russell et al. 2004). Čím blíže rovníku, tím trvá déle, než se potomek stane na rodičích zcela nezávislým. Dokonce po vylétnutí z hnízda zůstávají v rodné oblasti ptáci rozdílně dlouho – zatímco v severním temperátu trvá doba do osamostatnění necelý měsíc, v tropech jsou to alespoň tři měsíce (Russell 2000). Větší investice do jednotlivých mláďat souvisí s jejich vyvinutějšími křídly, které zvyšují šanci na přežití těsně po opuštění hnízda (Martin 2015, viz níže).

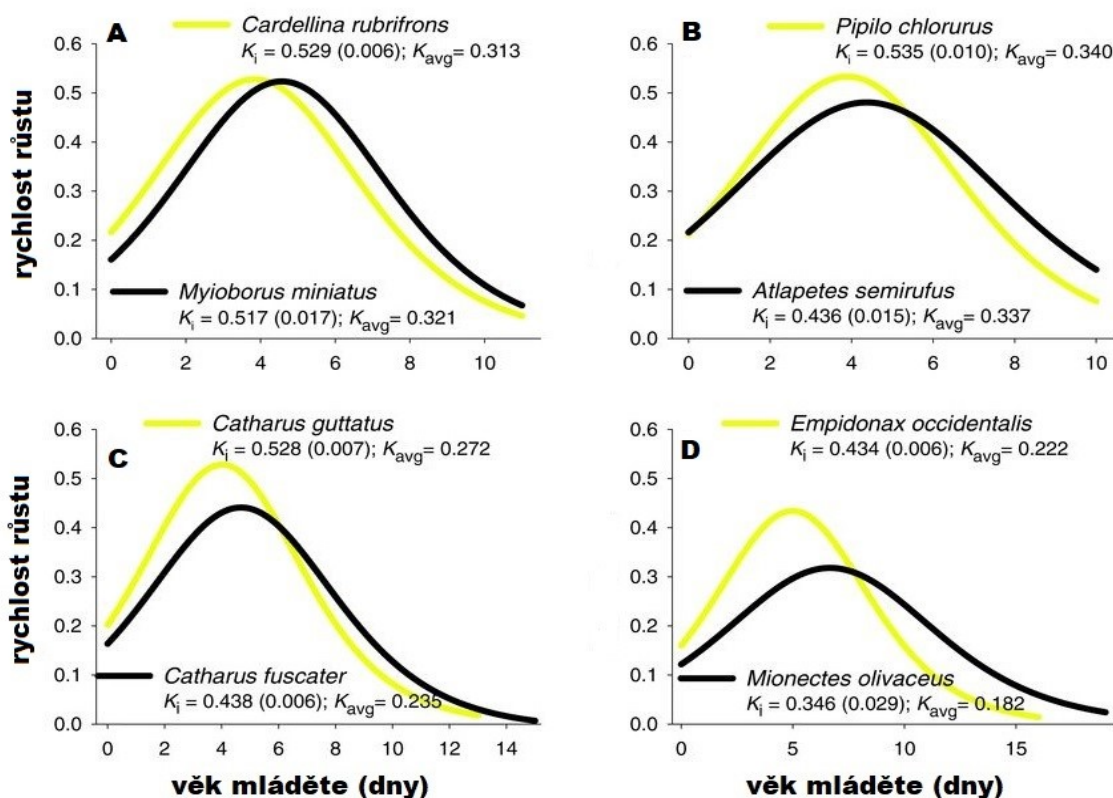
1.2.1.2. Rychlost růstu

Rychlost růstu ptačích mláďat se mezidruhově velmi liší (Case 1978, Dmitriew 2011). Tento trend je ještě nápadnější při srovnávání druhů z tropů a mírného pásu (Martin & Schwabl 2008). Protože růstová rychlost nejen že hraje roli v celkovém fitness mláděte, ale také vypovídá o umístění druhu na pomyslném fast-slow kontinuu, je důležité porozumět tomu, co tyto mezidruhové a meziregionální variace způsobuje.

Delší doba potřebná k osamostatnění u tropických ptáků se může jevit jako paradox. Hnízdní predace je v tropech větší než v mírném pásu, a proto by měla být výhodnější spíše redukce času stráveného v hnízdě než jeho prodlužování. I přesto ptačí mláďata v tropech rostou pomaleji (Remeš & Martin 2002). Problém by mohl být v dosavadním přístupu (Martin 2015). Rychlost růstu byla do té doby tradičně stanovována podle rychlosti dosažení peaku v růstové křivce (Wang et al. 2014), která je v tropech pomalejší, a proto převládal názor, že tropičtí ptáci celkově rostou pomaleji. Doba strávená na hnízdě tropických druhů je ovšem vzhledem k rychlosti nástupu růstového peaku o 2 až 6 dní kratší než u druhů v temperátu. To by znamenalo, že by tropická mláďata opouštěla hnízdo při relativně menší velikosti a méně vyvinutá než temperátní druhy, s čímž by následně souvisela zvýšená mortalita vylétlých ptáčat. Tento problém by mohl být vyřešen prodloužením doby strávené

v hnízdě, jenže pak by byl zvýšen predanční risk právě tam, a neplatil by onen výše uvedený vztah mezi dobou strávenou v hnízdě a rychlostí růstu.

Martin (2015) upozornil na důležitý fenomén, který do té doby nebyl brán v potaz. Při bližším pohledu jak na dobu dosažení maxima křivky rychlosti růstu, tak na její další průběh bylo zjištěno, že trajektorie růstu tropických ptáků se postupně mění (Obr. 5). V temperátu ptáci dosahují růstového vrcholu sice rychleji než v tropech, poté si ale růstové křivky „vymění místa“, a v následujících dnech rostou rychleji ptáci tropičtí. Tím je dosaženo stejné relativní velikosti těla, a není potřeba prodlužovat dobu strávenou na hnízdě. Tato strategie odráží větší rodičovské investice tropických ptáků do kvality mláďat. Pozvolnější, a tedy kvalitnější vývin menšího počtu potomků znamená výhody v podobě lepšího přežívání po opuštění hníзда (Martin 2015).

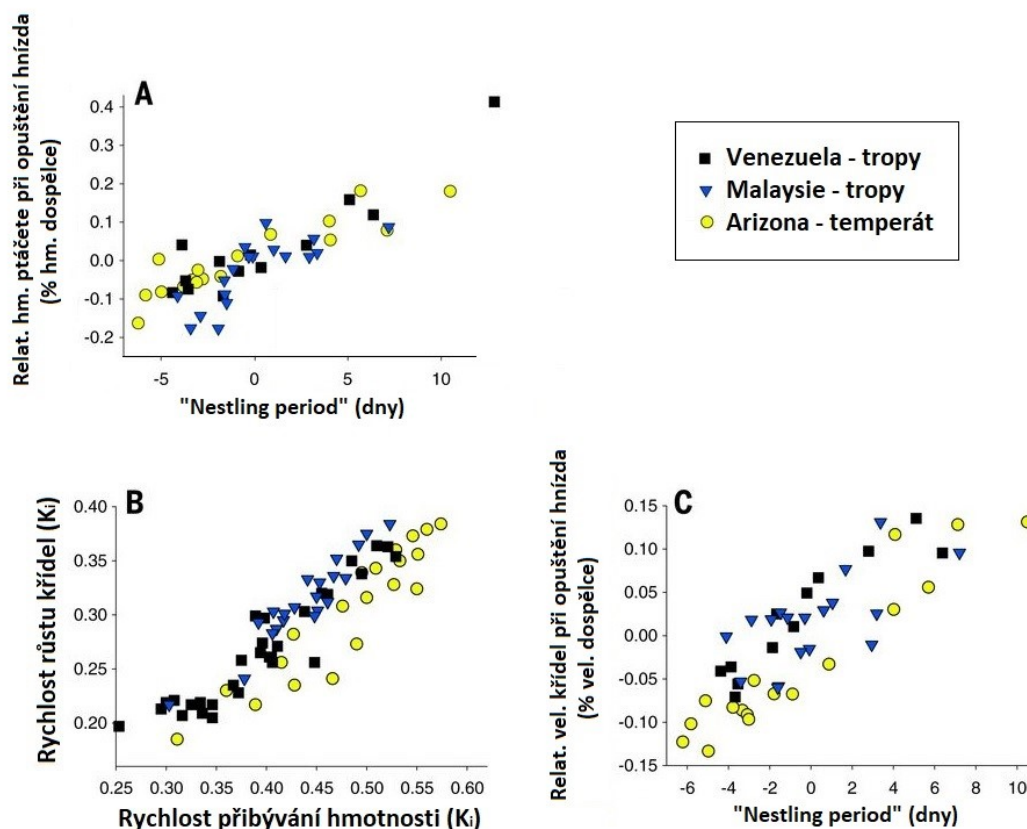


Obrázek 5. Rychlost růstu ptáčat během celé doby hnízdění u vybraných párů fylogeneticky příbuzných druhů pěvců z tropů (černá linie) a temperátu (žlutá linie). Rychlost růstu je zpočátku větší u druhů temperátních, po dosažení peaku ale rychleji rostou ptáci tropičtí. Rychlost růstu (K) je definována jako aktuální sklon křivky, $K_i \pm SE$ představuje vrchol a K_{avg} průměrný sklon křivky. Martin (2015).

1.2.1.3. Velikost křídel ptačích mlád'at při opuštění hnízda

Jak bylo uvedeno výše, při opuštění hnízda se liší velikost mlád'at v tropických a temperátních regionech. Relativní hmotnost těla je celkově stejná, ale je dosažena rozdílnými růstovými strategiemi. Ukazuje se, že v tropech je u ptáků selektována alternativní strategie i co se týče velikosti křídel ptáčat v době vylétnutí z hnízda, což by mohlo souviset i se samotnou rychlostí růstu jednotlivých per.

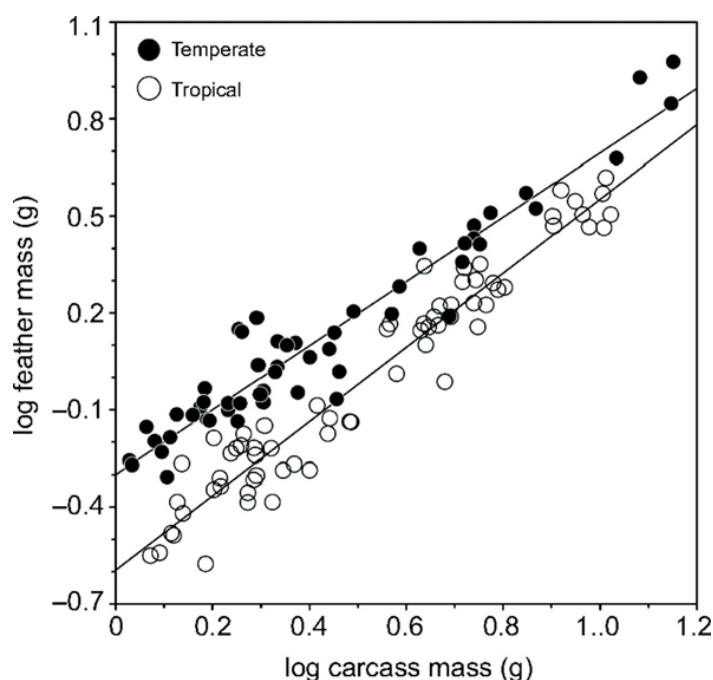
Pomalejší, ale zato stabilnější růst (typický pro ptáky z tropů) vede k lepší pohybové výkonnosti, což může být zásadní faktor například při útěku před predátory (Perez & Munch 2014). Právě predace je nejčastější příčinou úhynu vylétlých ptáčat pěvců (Martin 2014). Velikost křídel představuje důležitý atribut a může být rozhodující pro přežití. Delší a vyvinutější křídla jsou výhodná při útěku před již útočícími predátory, ale také ptákům umožňují zcela se nebezpečné situaci vyhnout (Morrison et al. 2009). Výsledky studie Martin (2015) ukázaly, že tropickým ptákům rostou křídla rychleji, v důsledku čehož jejich mlád'ata opouštějí hnízdo s relativně delšími křídly, než je tomu u ptáků se stejně dlouhou dobou strávenou na hnízdě po vylíhnutí v temperátní zóně (Obr. 6). Autor tento jev připisuje již zmiňovaným větším rodičovským investicím do menšího počtu potomků.



Obrázek 6. A) Relativní hmotnost vylétlých ptáčat je vzhledem k „nestling period“ stejná pro tropické i temperátní druhy. B) Tropičtí ptáci vykazují vyšší růstové rychlosti křídel než stejně velcí ptáci z temperátní oblasti. C) Ptáčata tropických ptáků opouštějí hnízdo s relativně delšími křídly než ptáčata ptáků temperátních. „Nestling period“ je definovaná jako počet dní mezi posledním sneseným vejcem a posledním mládětem opouštějícím hnízdo. Upraveno podle Martin (2015).

1.2.1.4. Hmotnost opeření

V rámci studia pace of life syndromů zkoumal kolektiv autorů Wiersma et al. (2012) velikosti nejruznějších částí těla ptáků. Mezi zkoumanými částmi těla bylo i peří, konkrétně byla měřena hmotnost kompletního opeření z celého povrchu těla eutanázovaných jedinců. Opeření tropických i temperátních ptáků bylo vysušeno a zváženo s přesností na 0,1 mg. Výsledky ukázaly signifikantně nižší hmotnosti u druhů tropických, a to o 37 % (Obr. 7). Tento rozdíl je ale pravděpodobně způsoben většími termoregulačními požadavky temperátních ptáků, spíše než odlišnými pace of life syndromy. V tropech, kde teploty vzduchu klesají ke kritickému minimu jen velice zřídka (pokud vůbec) a kde jsou problémy spíše s vysokými teplotami, by byli nositelé husté izolace jistě znevýhodněni. Tyto výsledky jsou v souladu s teorií slow pace of life v tropech, ovšem autoři opět neměřili ani nevážili jednotlivá pera.



Obrázek 7. Srovnání hmotností kompletního opeření tropických a temperátních ptáků v závislosti na hmotnosti těla (Wiersma et al. 2012).

1.2.1.5. Koncentrace steroidních hormonů

Hormony jsou různorodé sloučeniny zahrnující proteiny, steroidy, peptidy, eikosanoidy, terpeny a deriváty aminokyselin (Adkins-Regan 2005). Jejich funkce spočívá v řízení fyziologických dějů organismu v závislosti na jeho aktuálních potřebách. Hormony kolují v krevním oběhu, kde časem dochází k jejich degradaci a postupnému nahrazování hormony novými. Poločas rozpadu se liší podle konkrétních vlastností hormonu; pohybuje se v rozmezí od několika málo minut až po hodiny (Jánský & Novotný 1981). Koncentrace jednotlivých hormonů jsou považovány za důležité měřítko životních strategií živočichů, a proto budou následující odstavce věnovány dvěma nejvýznamnějším hormonům studovaným v kontextu měnící se latitudy a rozdílných životních strategií ptáků v tropech a temperátu – kortikosteronu a testosteronu.

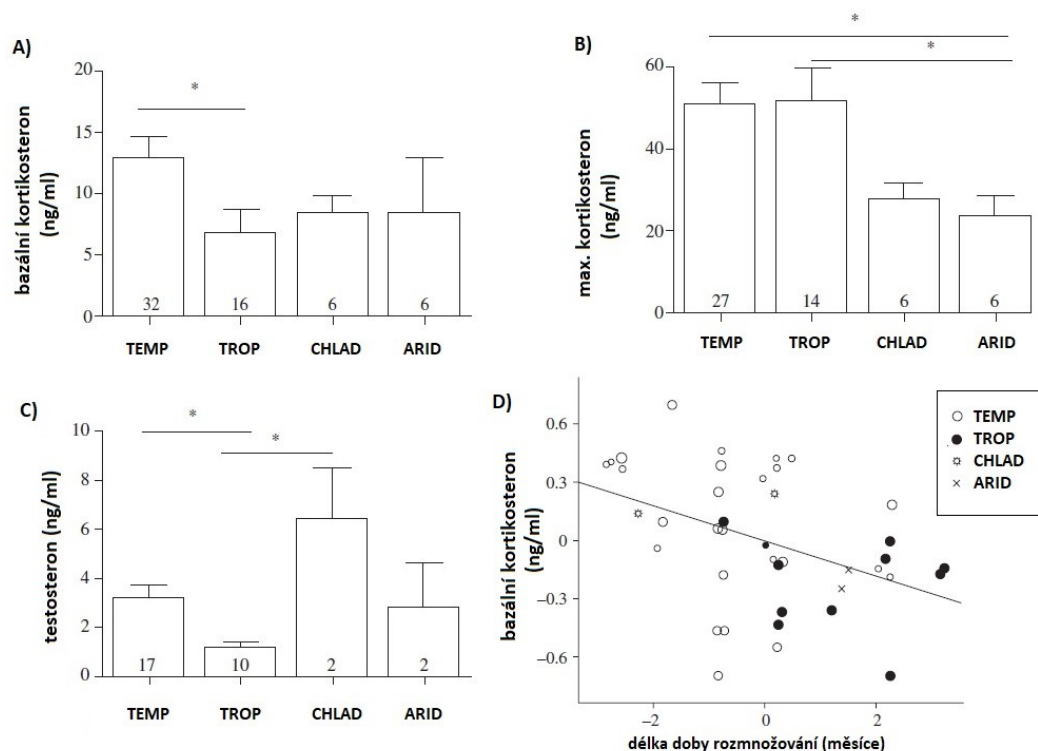
Kortikosteron

Kortikosteron je hlavním glukokortikoidním hormonem ptáků. Jeho koncentrace mají vliv především na regulaci energetického příjmu, uvolňování a skladování energetických zásob. Bazální hladiny ovlivňují celkový tělesný metabolismus; zvýšená produkce kortikosteronu v důsledku působení stresorů s sebou ale může nést negativní účinky. Jedním z nich je dopad na imunitu. V prvotních fázích zátěže dochází mimo jiných změn v těle také k mobilizaci imunitního systému. Vysoké hladiny kortikosteronu ale v těchto situacích působí opačným směrem, a imunitu potlačují. Chrání tak organismus před nepřiměřeně vysokou intenzitou reakce na stresový podnět (Minton 1994). Glukokortikoidy také mohou redukovat aktivaci a množení T-lymfocytů, B-lymfocytů a makrofágů, čehož se běžně využívá v lékařství při kortikoidové léčbě autoimunitních onemocnění. Zvýšená produkce kortikosteronu tímto způsobem „přepne“ chování a fyziologické funkce tak, aby bylo zajištěno samotné přežití jedince, na úkor v danou chvíli méně podstatných činností, jako je například úspěšná reprodukce a odchov mláďat. Hnízdící ptačí rodič silně ohrožovaný predátorem tak může kvůli stresem vyvolaným vysokým koncentracím kortikosteronu v krvi opustit hnízdo s celou snůškou (Sapolsky et al. 2000).

Obecně se předpokládá, že vzhledem k menším metabolickým nárokům tropických zástupců ptáků by jejich bazální koncentrace kortikosteronu měly dosahovat nižších hodnot než u ptáků z temperátní zóny. Stresové koncentrace by potom v tropech měly být vyšší z důvodu větších investic do přežívání oproti zástupcům mírného pásu. Potenciálně klíčovým faktorem by tedy mohlo být prostředí, které konkrétní ptačí druh obývá, a potažmo i délka rozmnožovací doby. V prostředí stabilním, snadno předvídatelném (v tropech) by měla být stresová reakce vyšší než u druhů, které se adaptovaly na podmínky méně stabilní a spíše nepředvídatelné. Reprodukční úspěch by totiž byl v nepříznivých podmínkách bez potlačení kortikosteronové reakce značně komplikovaný (Silverin et al. 1997). Touto problematikou se podrobně zabývali Hau et al. (2010). Během rozmnožovací sezóny studovali samce volně žijících ptačích druhů z mírného pásma severních USA a z tropické centrální Panamy. Práce brala v potaz klíčové life-history znaky těchto ptáků jako je přežívání dospělců, délka rozmnožovací sezóny a velikost těla. Výsledky byly konzistentní s vyslovenou hypotézou: vyšší bazální koncentrace kortikosteronu v krvi byly jednoznačně zjištěny u druhů temperátních (Obr.12).

Testosteron

Testosteron patří mezi steroidní hormony a hraje roli v mnoha fyziologických procesech. Podílí se na správném růstu a fungování neuronů, při vývoji kostí a svalů, ovlivňuje imunitní systém, spermatogenezi samců a také růst peří (Staub & DeBeer 1997). Hladiny testosteronu také odrážejí fyziologické a behaviorální procesy související s fekunditou samců. V době námluv a rozmnožování koncentrace tohoto hormonu stoupají a podporují tak sexuální a agresivní chování (Knobil & Neil 1998). Společně s kortikosteronem je testosteron nejvýznamnější hormon studovaný u ptáků v souvislosti s latitudinálními trendy a rozdíly mezi tropy a mírným pásem, přičemž rozdíl je jednoznačný – tropičtí ptáci mají nižší vrcholové koncentrace testosteronu oproti druhům temperátním (Levin & Wingfield 1992, Goymann et al. 2004 a Hau et al. 2010 (Obr. 8)). Důvodem těchto variací je pravděpodobně celoroční teritorialita v tropických oblastech oproti teritorialitě sezónní v mírném páse (Stutchbury a Morton 2001). Tropičtí ptáci mají dlouhodobě stanovené hranice teritorií, a proto nedochází k intenzivnějším interakcím mezi samci.



Obrázek 8. Grafy A-C znázorňují mezidruhové variace v koncentracích bazálního ($t \leq 3$ min.; A) a stresem vyvolaného kortikosteronu ($t = 30$ a 60 min.; B) a testosteronu (C) v krvi samců ptačích druhů z různých typů prostředí: TEMP – temperátní, TROP – tropické, CHLAD – chladné a ARID – aridní (arktické nebo alpské). Graf D ukazuje vztah mezi bazálními koncentracemi kortikosteronu a délkou rozmnožovacího období v různých typech prostředí. Upraveno podle Hau et al. (2010).

Teritoria jsou dlouhodobě stanovena a interakce mohou nastat v menší míře kdykoliv během roku. Zástupce tropů, mravenčík tečkoprský (*Hylophylax n. naevioides*), udržuje koncentraci testosteronu celoročně nízko (0,2 ng/ml) a je schopen ji zvýšit (až na 1,57 ng/ml) v případě potřeby (např. v období sociální nestability) kdykoliv během roku. Při experimentálním narušení teritorií, simulovaném pomocí přehrávání specifických zpěvů, se hladina testosteronu u samců během dvou hodin zvýšila (Wikelski et al. 1999). Tato strategie umožňuje eliminovat škodlivé účinky trvale zvýšené hladiny testosteronu, a přesto neztratit schopnost adekvátní reakce na případné konflikty.

Tropické druhy vykazují intenzivnější rodičovskou péči, a období, kdy se ptáčata zdržují na území rodičů, je u nich prodloužené. V tropech dosahuje přežití u dospělců vysoké úrovně, takže nedochází k častým obměnám vlastníků teritorií (Russell et al. 2004). Je možné, že snížená koncentrace testosteronu může přispívat k tomu, aby samec toleroval své potomky v teritoriu (Hau et al. 2008).

S testosteronem souvisí hypotéza imunokompetenčního handicapu (Roberts et al. 2007). Ta předpokládá, že samotný testosteron nemá žádný vliv na zhoršení imunity, ale způsobuje ji nepřímo tak, že zvyšuje hladiny kortikosteronu. Jak bylo řečeno výše, kortikosteron imunosupresivně působit může (Sapolsky et al. 2000). Protože testosteron podporuje agresivní chování a potažmo stresové situace, zvýšení hladin kortikosteronu v důsledku těchto stresorů může ovlivnit imunosupresi vedoucí k negativním vlivům na organismus.

Kortikosteron i testosteron lze analyzovat z různých tělesných tekutin, výměšků či kožních derivátů, jako je například peří (Bortolotti et al. 2008, Koren et al. 2012a). Právě opeření představuje oproti jiným zdrojům hormonů nespočet výhod. Peří a analýze hormonů je níže věnována samostatná kapitola.

1.2.1.6. Rychlost metabolismu a velikost orgánů

Informace o energetických výdajích jsou významným a často používaným měřítkem životních strategií obratlovců. Prostřednictvím studia rychlosti metabolismu můžeme pozorovat, jak se konkrétní živočichové přizpůsobují prostředí, ve kterém žijí (McNab 1997).

Charakter metabolismu lze zjistit několika způsoby. Nejčastěji se měří bazální míra metabolismu (BMR), neboli klidový metabolismus zvířete v tepelně neutrální zóně (McNab 1997). Tento klidový metabolismus je u obratlovců vysoce predikovatelný a určuje ho zejména celková váha jedince, teplota prostředí a fylogeneze. Z endotermních obratlovců mají nejnižší BMR zástupci savčí skupiny ptakořitných (Monotremata), nejvyšší pak ptáci z řádu pěvců (Passeriformes) (Bartholomew 1982). Méně používaná je míra vrcholového metabolismu (PMR), představující maximální míru metabolismu vyvolanou zvýšenou aktivitou či vystavením chladu (Hinds et al. 1993). BMR a PMR jsou pak součástí celkového metabolismu (FMR), který zahrnuje všechny aktivity denního cyklu.

Srovnáním rychlostí metabolismu u tropických a temperátních ptáků se zabýval kolektiv autorů Wiersma et al. (2007). Testovali, zda se u tropických ptáků (s jejich nižší mírou reprodukce a lepším přežíváním) vyvinula redukováná BMR. Analýza probíhala na souboru dat získaném od 69 druhů tropických a 59 druhů temperátních ptáků. Měření BMR probíhalo pomocí hodnocení spotřeby kyslíku ve standardním průtokovém respirometru v termoneutrální zóně konkrétního druhu během noci po odchytu. Vyslovený předpoklad se podařilo potvrdit: u ptáků z tropů byla zjištěna o 9,8 – 17,8 % nižší BMR než u ptáků temperátních, v závislosti na aplikované statistické metodě. Dále byla měřena PMR vyvolaná vystavením chladu. Podobně jako u BMR byl i v tomto případě zjištěn pomalejší metabolismus u tropických zástupců. Bazálním metabolismem tropických a temperátních ptáků se zabývali také Bushuev et al. (2018). Porovnáním dosud nejobsáhlejšího datasetu obsahujícího vlastní data od tropických ptáků z oblasti Vietnamu a dříve publikovaných dat od dalších tropických a temperátních ptáků byl potvrzen pomalejší BMR u tropických ptáků oproti temperátním druhům. Redukovaná míra bazálního metabolismu tropických ptáků souvisí také s velikostí jejich vnitřních orgánů (Wiersma et al. 2012). Kombinací dat dostupných z literatury a přímého kvantitativního měření celkem bezmála 450 ptačích druhů

byly zjištěny signifikantní rozdíly v hmotnostech některých orgánů. Srdce, plíce, játra, ledviny, vaječníky a varlata mají u tropických druhů ptáků menší hmotnost, a to v rozmezí od -18 % do -72 %. Veškerá data byla ošetřena na celkovou velikost těla. Redukovaná hmotnost jednotlivých částí těla a míra bazálního i vrcholového metabolismu jsou v souladu s životní strategií charakterizovanou nízkou mírou mortality a sníženou produktivitou, která je pro tropické ptáky typická (Williams et al. 2010).

Rozdíly v rychlosti metabolismu v závislosti na latitudě lze zaznamenat nejen mezidruhově u fylogeneticky vzdálených skupin ptáků, ale také v rámci sesterských druhů. Wikelski et al. (2003) uvedli, že populace bramborníčka černohlavého (*Saxicola torquata*) z Keni (0°N), Irska (51.5°N), Rakouska (47.5°N) a Kazachstánu (51.5 °N) vykazují v Keni výrazně nižší BMR než ve všech ostatních zkoumaných lokalitách. Aktuální taxonomie dnes rozlišuje mezi dvěma druhy – *Saxicola rubicola* s výskytem v temperátní Evropě a severní Africe a *Saxicola torquata* obývajících zbylou oblast Afriky (<https://avibase.bsc-eoc.org>). Wikelski et al. (2003) tedy nesrovnávali různé populace stejného druhu, ale sesterské druhy stejného rodu, což ovšem snižuje relevantnost výsledku.

U ptáků v tropech tedy přírodní výběr upřednostňuje celkově pomalejší metabolismus. S rychlostí metabolismu souvisí také rychlost hromadění škodlivých látek v těle, která je v tropech pomalejší (Finkel & Holbrook 2000). Je možné, že tento proces souvisí s relativně vyšším věkem dožití tropických ptáků, ale přesné vztahy zatím zůstávají neobjasněné (Finkel & Holbrook 2000). Pro vysvětlení odlišných charakterů metabolismu tropických a temperátních ptáků v současnosti existují dvě alternativní hypotézy. Podle první hypotézy je pomalý BMR tropických druhů přímo způsoben vyššími teplotami v nižších latitudách, kde jsou celkové nároky na termogenezi nízké. Tato teorie je v souladu s výsledky analýz, které ukázaly negativní vztah mezi BMR a teplotou vzduchu (White et al. 2007, Jetz et al. 2008). Druhou možností představuje teorie, že pomalý BMR tropických ptáků je spíše mechanismus obecně související s nižšími investicemi do reprodukce a celkově s „pomalejším“ životem těchto druhů (Ricklefs & Wikelski 2002).

Povědomí o významu POLS, jakožto nezanedbatelného zdroje odpovědí na otázky ohledně porozumění interakcím mezi živočichy a jejich prostředím, roste (Sol et al. 2018). Dosud málo prací se ovšem zabývalo touto teorií v kontextu ptačího opeření. Samotný růst per, následné pelichání a růst nových per představuje jednu z nejkritičtějších aktivit, do

kterých všichni ptáci během života musí (opakovaně) investovat (Palmer 1972), a proto jakékoliv nové informace ohledně tohoto procesu mohou být velmi zásadní pro přesnější pochopení jejich životních strategií a adaptací.

1.3. Peří

Mezi mnoha různými typy integumentu obratlovců je ptačí peří jedním z nejkompexnějších. Charakteristický tělní pokryv ptáků je v mnoha parametrech výjimečný – nabývá variabilních velikostí, tvarů, barev a textur; morfologicky a funkčně je naprosto unikátní. První dochované filamenty a pera jsou známy ze svrchní jury (161,2 – 150,6 mya), jejich prekursori mohly vzniknout dokonce 100 milionů let před zrodem letu (Clarke 2013). U moderních ptáků je peří nutné k letu a izolaci. Často hraje zásadní roli v komunikaci, v sexuální chování, kompetici, v kamufláži proti predátorům či plní funkci hmatových fousů.

1.3.1. Stavba pera

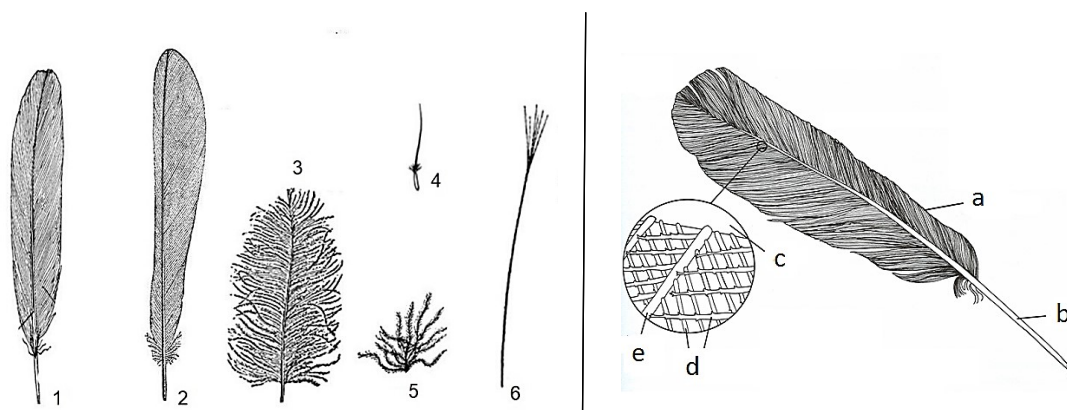
Opeření je tvořeno dvěma základními typy peří: obrysovým (*pennae contourae*) a prachovým (*plumae*) (Obr. 9). [Následující informace o obecném popisu ptačího peří, terminologie a morfologie byly čerpány od autorů Prum & Brush (2003) a Černý (2005)].

1.3.1.1. Obrysové peří

Obrysové peří pojímá všechna pera, která vytvářejí siluetu ptáka. Zahrnuje ocasní (rýdovací) pera (*retices*), letky na křídlech (*remiges*), krycí pera na povrchu hlavy, krku, těla a nohou, a modifikovaná vlasová pera (*filoplumae*) a vibrisy, která se navenek mohou jevit jako savčí chlupy. Typické obrysové pero má na bázi brk (*calamus*). Tato část pera je zanořena v perovém váčku a zakotvuje pero v kůži. Brk přechází v často dlouhý, válcovitý, na konci zašpičatělý centrální osten (*rhachis*). U většiny obrysových per nese osten po stranách prapor (*vexillum*). Ten se skládá z větví (*rami*), které vyrůstají v jedné rovině po obou stranách ostnu. Z každé větve vyrůstají v téže rovině na obě strany paprsky (*radii*); paprsky směřující

ke špičce pera nesou háčky (*hamuli*). Ty jsou tvarované tak, aby systémem podobným suchému zipu umožnily zaklesnutí do paprsku vedlejší větve, a daly tím vznik tenké a jemné, a přesto pevné struktury praporu. Systém paprsků s do sebe zapadajícími háčky je klíčový pro pevnost a odolnost pera. Díky této sofistikované soustavě disponuje obrysové peří vlastností „brnění“, které je lehké i pružné a zároveň téměř neprostupné pro vnější živly, jako je voda a vítr; izoluje, chrání tělo před abrazií, a díky překrývajícím se praporům roztaženého křídla vzniká pevná aerodynamická plocha zásadní pro schopnost letu.

Specifickou stavbu v rámci obrysového peří mají vlasová pera vyrůstající mezi krycím peřím. Jejich osten je tenký, holý, pouze na distálním konci s praporem bez háčků. Předpokládá se, že vlasová pera mají senzorickou funkci a poskytují ptákům informace ohledně směru proudění vzduchu. Krátké a tenké vibrisy rostou v koutcích zobáku například zástupcům z čeledi lelkovitých (*Caprimulgidae*), čímž usnadňují lov létajícího hmyzu.



Obrázek 9. Typy per a stavba krycího pera. 1) rýdovací pero, 2) letka, 3) semiplumae, 4) vibrisy. 5) prachové pero, 6) vlasové pero; a) prapor, b) brk, c) osten, d) paprsky, e) větev. Upraveno podle: Feather Structure [online], Types of bird feathers [online]

1.3.1.2. Prachové peří

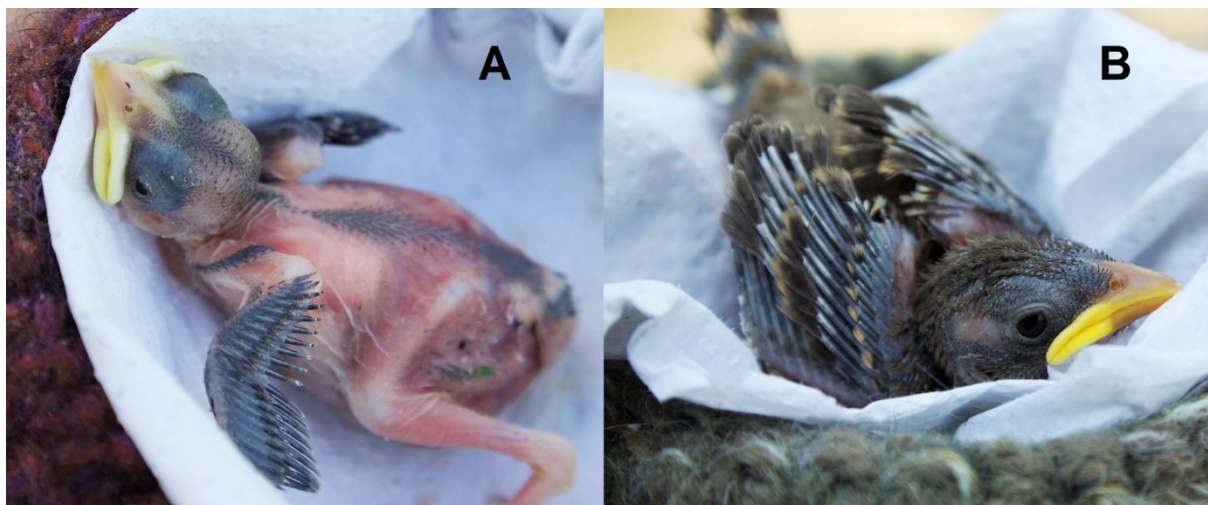
Prachové peří (*plumae*) a prachovitá pera (*semiplumae*, tedy jakýsi mezičlánek mezi obrysovým a prachovým peřím) mají stavbu brku, ostnu a větví shodnou s peřím krycím. Brk je ovšem značně krátký a paprsky nemají háčky, takže celkový vzhled je spíše chomáčovitého charakteru. Prachové peří roste na povrchu těla ptačích mláďat a poskytuje jim výbornou tepelnou izolaci. U adultních ptáků plní prachové peří stejnou úlohu. Společně s prachovitými pery roste pod vrstvou krycích per. Vodním ptákům navíc usnadňuje udržení

se na vodní hladině. Speciálním typem prachového peří jsou tzv. pera pudrovitá (*pennae pulveriformes*), která se na distálním konci drolí a produkují tak tzv. drobný prach. Tento typ per se vyskytuje např. u zástupců čeledi holubovitých (Columbidae), kteří postrádají kostrční žlázu. Drobný prach má podobnou funkci jako olejovitý sekret kožní žlázy – chrání peří před promoknutím a následným prochladnutím.

1.3.2. Růst pera

Ontogeneticky pero vzniká z epidermové papily, která je bohatě zásobena krví tzv. pulpou. Během svého růstu pulpa prostupuje celým základem pera, budoucím brkem. Před ukončením růstu pera dojde k přerušení inervace a prokrvení, a pulpa se stahuje zpět. Z pera se tak stává kompletně „mrtvá“, čistě epidermální struktura, podobně jako je tomu u lidského vlasu. Hotové pero už tedy není možné opravit. Peří se samozřejmě různými vlivy postupně ničí – při letu, při pohybu v hustém porostu, při střetu s predátorem či kořistí, ale také vlivem ultrafialového záření na denním světle. Nezanedbatelným faktorem je také přítomnost ektoparazitů – opeření jediného ptačího druhu může být hostitelem až pětadvaceti druhů parazitů (Gaud & Atyeo 1996). Grooming (péče o povrch těla) je u ptáků nezbytnou činností. Pokud je pero velmi poničené a grooming nemá žádný efekt, musí jedinec určitý čas přechkat do přepeření.

Ptáci pelichají, tedy obměňují své peří, každoročně či několikrát do roka (Mathew & Naik 1986). Jakmile pero vypadne nebo je např. vytrženo predátorem, okamžitě se započne růst pera nového (Payne 1972). Před přirozenou výměnou pera, tedy při pelichání, začne růst škárová papila opotřebovaného pera do hloubky. Tam vznikne nová papila, která staré pero vytlačí a spolu s novou epidermální papilou se začne vyvíjet pero nové. Jedná se o energeticky nákladnou činnost, a proto může být růst nového pera redukován, pokud si zdroje žádají jiné aktivity. Z tohoto důvodu je období pelichání časově odděleno od dalších energeticky nákladných činností ptáků – migrace a rozmnožování (Grubb 2006). Při dostatečných potravních zdrojích jsou denní přírůstky, potažmo i rychlost růstu celého pera, vyšší (Grubb 1989). Důsledky nedostatečně bohatých potravních zdrojů či vystavení stresu během doby růstu peří naopak způsobují redukci růstové rychlosti (Jenni-Eiermann et al. 2015).



Obrázek 10. Ukázka fází opeření vrabce domácího (*Passer domesticus*). **A** – cca 7 dnů staré mládě s dobře viditelnými, ještě uzavřenými toulci budoucích letek na křídle. **B** – stejný jedinec o 5 dnů později. Zdroj: archiv Záchrané stanice hl. m. Prahy pro volně žijící živočichy (2018).

1.3.3. Růst peří a migrace

Pelichání probíhá u každého ptačího druhu specifickým způsobem. Pro evropské pěvce lze definovat čtyři přibližné základní typy pelichání (Winkler & Jenni 2009):

- I. *Kompletní postjuvenilní pelichání v prvním létě/podzimů života; současně kompletní pelichání adultů.* Ocasní pera všech věkových kategorií pelichají v temperátu a po této výměně nosí tzv. celoroční šat.
- II. *Částečné postjuvenilní pelichání v prvním létě/podzimů života a kompletní pohnízdní pelichání jako adulti.* Ocasní pera všech věkových kategorií pelichají v temperátu. Adulti poté nosí celoroční šat, tohoroční ptáci a ptáci v druhém roce života tzv. první celoroční šat složený z celoročního šatu a zachovaných per juvenilního šatu.
- III. *Částečné postjuvenilní pelichání v prvním létě/podzimů života nebo kompletní pohnízdní pelichání jako adulti na hnízdišti a částečné předhnízdní pelichání v zimě/na jaře.* Ocasní pera adultů pelichají v temperátu. V předjaří dochází u všech věkových kategorií k částečnému předhnízdnímu pelichání na zimovišti, které se ale

týká pouze drobného opeření těla a per křídla. Do této skupiny patří jediný zástupce ze všech studovaných dálkových migrantů, lejsek bělokrký (*Ficedula albicollis*).

- IV. *Všechny věkové kategorie kompletně pelichají na zimovišti.* Ocasní pera pelichají na zimovišti (v Africe). Do této skupiny patří výlučně dálkoví migranti a zároveň všichni zástupci dálkových migrantů studovaní v této práci s výjimkou lejska bělokrkého.

Pro zástupce temperátní Evropy platí, že nemigrující (rezidentní) druhy a druhy migrující na krátké vzdálenosti pelichají zejména v červenci a září a prodělávají výměnu peří ve stejných klimatických podmínkách, ve kterých i hnízdí (Winkler & Jenni 2009). Totéž samozřejmě platí pro nemigrující ptáky v jakékoliv jiné oblasti (např. v tropické Africe). Naopak dálkoví migranti většinou kompletně pelichají na zimovišti (typ IV.) Některé druhy dálkových migrantů, jako například lejsek bělokrký (*Ficedula albicollis*), však pelichají před odletem na zimoviště (typ III.), tedy v klimatických podmínkách hnízdiště.

Přesná období pelichání v Africe nejsou dostatečně známa. Nedostatečné jsou také znalosti o podmínkách panujících na zimovištích našich dálkových migrantů. Například nálezů vlaštovky obecné (*Hirundo rustica*) hnízdící na území ČR je z afrických zimovišť hlášeno poměrně málo. Kroužkovací aktivita je v jižní Africe zaměřena především na zimoviště populací vlaštovek přilétajících z Velké Británie a Skandinávie (Cepák et al. 2008). Opeření tohoto a dalších druhů, u kterých stále chybí znalosti o jejich chování během zimního období, by mohlo být zdrojem informací jak o podmínkách panujících na konkrétních zimovištích, tak o strategiích týkajících se samotného růstu peří.

Vzhledem k rozdílům v rychlosti metabolismu tropických a temperátních ptáků by mohla v kontextu hypotézy *pace of life* představovat důležitý ukazatel celkové „rychlosti života“ právě růstová rychlost peří. V kapitolách níže bude představena metoda, která bude v diplomové práci následně využita pro zjištění této proměnné v rámci ptáků severního temperátu Evropy a rovníkové tropické Afriky.

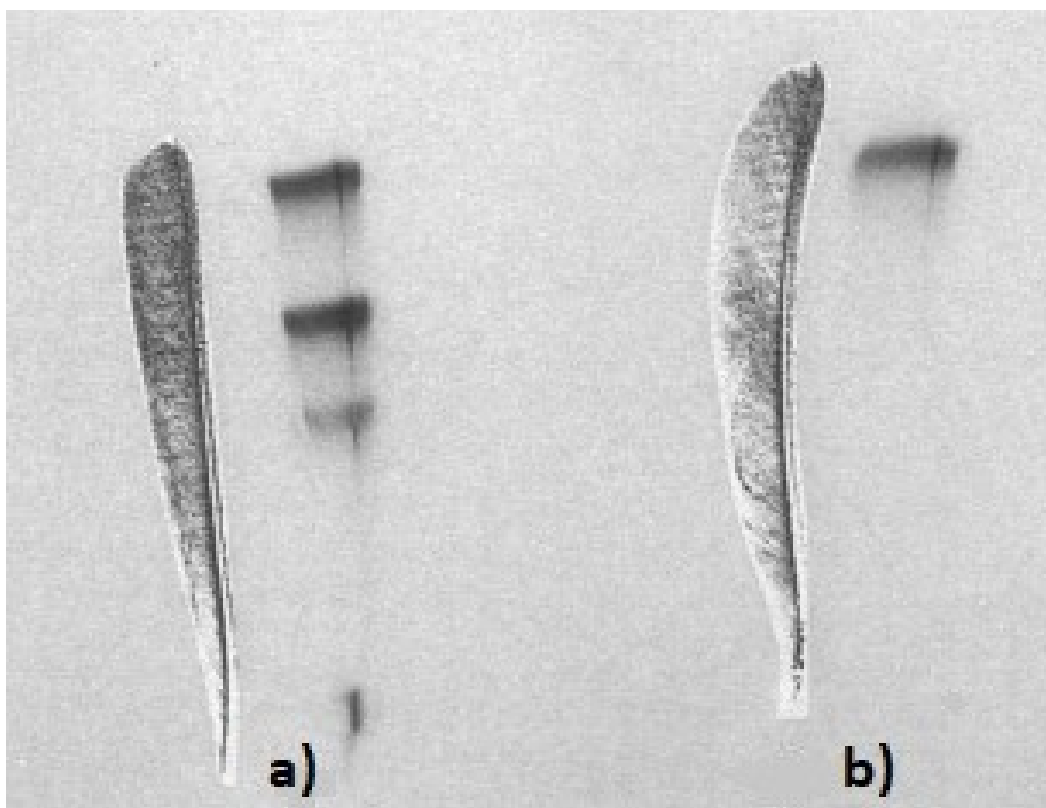
1.4. Ptilochronologie

Ptačí pero se dá zkoumat z mnoha perspektiv a mnoha metodami. Jednou z nich je ptilochronologie (Grubb 1989), tedy studium rychlosti růstu pera na základě měření tzv. růstových proužků („growth bars“; Wood 1950). V odborné literatuře se o proužcích na perech zmiňují autoři již od počátku 20. století, a to pod pojmy "ribbing" (Mascha 1905), "fault bars" (Riddle, 1908), dále pak "watered barring" (Forbush 1929, podle Wood 1950), nebo jednoduše "feather bars" (Michener & Michener 1938).

1.4.1. Princip metody

Princip ptilochronologie si lze představit podobně jako dendrochronologii – metodu datování založenou na analyzování letokruhů dřeva, která posloužila jako inspirace při pojmenování zde popisované metody (Grubb 1989). Oba typy „zápisů“ či záznamů mají velmi podobný koncept, s rozdílem v časovém úseku – zatímco na dřevě pozorujeme meziroční přírůstky, ptilochronologie se týká denních intervalů.

Růstové proužky se na praporu vytváří v době růstu pera. Za 24 hodin se utvoří dvojice tmavého a světlého proužku. Růstový proužek je potom definován jako dvojice světlého a tmavého proužku. Brodin (1993) v experimentu využil vlastností cystinu – aminokyseliny známé pro svou schopnost snadného zakomponování do struktury keratinu v peří. Autor nejprve experimentálně odstranil ocasní pero všem sledovaným jedincům sýkory babky (*Parus palustris*; dnes *Poecile palustris*) a sýkory lužní (*Parus montanus*; dnes *Poecile montanus*) a poté přidal radioaktivně značený L-[³⁵S] cystin do jejich potravy. Jak předpokládal, po pozření takto upravené potravy došlo u sýkor k začlenění radioaktivní ³⁵S do nově rostoucích ocasních per a bylo tak možné potvrdit, že dvojice světlého a tmavého proužku odpovídá 24hodinové periodě (Obr. 11).



Obrázek 11. Autoradiografické a fotostatické snímky ocasních per dospělců sýkory lužní (*Poecile montanus*; a) a sýkory babky (*Poecile palustris*; b). Počet růstových proužků mezi hranicemi radioaktivních úseků pera odpovídá počtu dní mezi krmeními radioaktivně značenou potravou. Brodin (1993).

Na perech se také mohou tvořit tzv. "fault bars", tedy kazové proužky, vznikající v důsledku dlouhodobějšího hladovění, při nevhodných manipulacích během odchytu či jiné stresové situaci. Jejich vzhled může být variabilní – od téměř nepatrných „drážek“ orientovaných kolmo k ostnu až po velké mezery, kde v peru chybí větve (Jovani & Rohwer 2016). Fault bars také mohou být způsobeny chybnou depozicí melaninu (Ross et al. 2015), což se na vzhledu pera projeví jako průsvitný nebo nápadně světlý pruh. Problematika kazových proužků zatím není dostatečně prozkoumána, a proto jí zde nebudu věnovat další komentář.

1.4.2. Vztah růstových proužků s fotoperiodou a cirkadiánními rytmy

Mechanismy vzniku růstových proužků také stále nejsou uspokojivě objasněny. Riddle (1907) uvedl, že na vzniku proužků se zřejmě podílí rozdílný tlak krve v noci a ve dne, přičemž v noci se při nižším tlaku krve zmenší průměr folikulu, ve kterém je pero tvořeno, čímž dochází k ovlivnění mikrostruktury pera a rozdílnému zbarvení. Vznik růstového proužku za dobu 24 hodin byl potvrzen u většiny zkoumaných druhů ptáků (např. Wood 1950, Murphy & King 1991). Výjimky byly zaznamenány pouze u dospělých albatrosů laysanských (*Phoebastria immutabilis*) a mládřat lejsků černohlavých (*Ficedula hypoleuca*) u kterých se za dobu 24 hodin vytvoří růstové proužky dva (Langston & Rohwer 1996, Kern & Cowie 2002). Za tímto jevem pravděpodobně u albatrosů stojí odlišný charakter potravního chování (na rozdíl od pěvců nevyhledávají potravu během dne, ale převážně za úsvitu a soumraku) a u juvenilních lejsků zvolená věková kategorie. Odlišnost v cirkadiánních rytmech těchto ptáků může mít za následek právě zmíněnou dualitu růstových proužků (Langston & Rohwer 1996).

Jovani et al. (2011) zjišťovali, zda střídající se světlé a tmavé proužky odpovídají fotoperiodě, jinými slovy, zda se rozměry těchto proužků mění s měnícím se poměrem délky dne a noci během kalendářního roku. Za účelem výzkumu byly analyzovány růstové proužky 30 jedinců orebice rudé (*Alectoris rufa*) z per odebraných ve čtyřech fázích roku: 1) za letního slunovratu (15 hodin dne : 9 hodin noci), 2) za zimního slunovratu (9 hodin dne : 15 hodin noci) a 3) během jarní a podzimní rovnodennosti (12 : 12). Autoři předpokládali, že šířka tmavého proužku bude tím větší, čím delší je den, resp. šířka světlého proužku menší, čím kratší je noc. Tento předpoklad se ovšem nepotvrdil. Růstové proužky odpovídaly 24hodinové periodě, ale dílčí tmavé/světlé proužky neodpovídaly fotoperiodě. Výsledky naznačují, že mechanismy vzniku proužků tedy nesouvisí s délkou doby denního světla, jako spíš s fyziologií a cirkadiánními hodinami, které ovládají dynamiku krevního tlaku a spánku/bdění. Hypotéza vyslovená před více než sto lety (Riddle 1907) by tak mohla být částečně pravdivá, minimálně co se týká denních ptáků s běžnými cirkadiánními rytmy. Pro bližší poznání tohoto fenoménu by bylo zajímavé například srovnat schéma proužků vznikajících na perech jedinců chovaných v konstantně simulovaných denních/nočních podmínkách. Pro účely této diplomové práce je ale podstatné, že díky ptilochronologii jsme schopni zjistit přírůstek růstu pera za 24 hodin (kromě dvou ptačích druhů, kde ovšem

studování jedinci spadají do jiných behaviorálních a věkových kategorií než jedinci zkoumaní ve všech ostatních ptilo-chronologických studiích).

Samotné rozpoznání růstových proužků na peru může být pro netrénovaného pozorovatele záludné. Proužky jsou často nepatrné, viditelné pouze pod určitým úhlem dopadajícího světla (podobně jako vodoznak na bankovce), nejlépe pozorovatelné na tmavých, jednobarevných letkách a ocasních perech. Nerozpoznatelnými se proužky stávají na perech několikabarevných, strakatých, se skvrnami (Obr. 12). Úhel mezi růstovým proužkem a ostnem pera se pohybuje mezi 45° a 90° a je vnitrodruhově víceméně stálý, mezidruhově však variabilní (Wood 1950).



Obrázek 12. Porovnání viditelnosti růstových proužků u různých typů zbarvení ocasního pera. Na tmavém, jednobarevném peru skorce vodního (*Cinclus cinclus*) (a) jsou střídající se světlé a tmavé proužky zřetelné, na strakatém peru krutihlava obecného (*Jynx torquilla*) (b) nikoliv.

1.4.3. Fluktuace v asymetrii

V rámci bilaterální souměrnosti může opeření ze vzájemně symetrických částí těla vykazovat jistou míru variability. Fluktuace v délkách pera je běžná a její míra byla zkoumána například ve vztahu k sexuálnímu výběru vlaštovky obecné (Møller 1993). Symetričtější ocasy jsou u samců tohoto druhu znakem lepší kondice, a proto jsou samicemi preferovány. Asymetrie může souviset například s dostupností potravy během růstu pera nebo s dalšími stresovými situacemi, jako je například setkání s predátorem, které vedou k odlišným podmínkám pro růst nového pera (Swaddle & Witter 1994, Harris 2015). Pro vyjádření variability naměřených hodnot je často využíván koeficient variance (CV, Sokal & Rohlf 1981).

1.4.4. Výhody metody

Analýza růstu pera metodou ptilochronologie je díky nenáročnosti a šetrnosti vhodná pro různé experimenty. Její výhody spočívají zaprvé v minimálním dopadu na studované ptáky – jak již bylo zmíněno, plně vzrostlé pero upevňuje v kůži pouze mrtvá pojivová tkáň. Vytržení pera tudíž pro ptáka znamená jen minimální a chvilkový diskomfort.

Další výhodou představuje fakt, že absence jednoho či dvou per nemá na efektivitu letu zvláštní vliv, stejně tak jako na izolační a voděodolnou funkci celého opeření. Pro efektivní let a manévrování, hlavně v případě setkání s predátory či jiným nebezpečím, je stav letek a rýdovacích per rozhodující – může být zásadní pro přežití jedince (Witter et al. 1994). V období pelichání představuje dočasná ztráta per narušení souvislé plochy křídla, se kterým se ptáci musejí vypořádat. Schopnost minimalizace dopadů způsobených pelicháním prezentoval kolektiv autorů Senar et al. (2002). Na rozdíl od předchozích studií zabývajících se touto problematikou nebyli předmětem výzkumu ptáci z voliér (kde by výsledky mohly být ovlivněny behaviorálními změnami vázajícími se k pobytu v zajetí), ale volně žijící sýkory koňadry (*Parus major*). Odchycené sýkory byly náhodně rozděleny do dvou skupin: experimentální (E) a kontrolní (C). Jedincům ve skupině E byla prostřednictvím zafixování tří letek zredukována plocha křídla o 8 %, což odpovídá ztrátě per při běžném pelichání tohoto druhu. Skupině C pera zafixována nebyla. Všichni ptáci byli zváženi a poté vypuštěni. Po dvou týdnech znovu proběhlo odchycení, zvážení, a zatímco skupině E byla fixační páska

odstraněna, ve skupině C experimentátoři upevnili ptákům stejná pera stejným způsobem. Následně ptáky opět vypustili a za další dva týdny potřetí odchytili a zvážili. Páska byla skupině C odstraněna, všichni ptáci byli vypuštěni. Jak se v tomto období blížícího se podzimu předpokládalo, sýkory z kontrolní skupiny C zvýšily svou hmotnost. U sýkor ze skupiny E, které měly pera zafixovaná, k této hmotnostní změně nedošlo. K nárůstu hmotnosti u nich došlo až po druhém odchytu, tedy když už pera zafixovaná neměly. U nově manipulované skupiny C ovšem hmotnost poklesla. Senar et al. (2002) takto prokázali, že ptáci strategicky upravují tělesnou váhu jako odpověď na sníženou plochu křídla a optimalizují tak poměr těchto dvou proměnných.

Zatřetí, díky čitelnosti růstových proužků je na hotovém peru možné snadno rozpoznat přírůstek náležící jednotlivým dnům, takže pro studium růstu pera není nutné ho měřit průběžně během opakovaných odchytů daného jedince. Pokud známe charakter pelichání námi zkoumaného druhu, je dokonce možné přečíst záznam i několik týdnů či měsíců po samotném růstu pera (Grubb 2006).

1.4.5. Růst peří jako POLS u ptáků

Jestliže přírodní výběr zvýhodňuje jedince schopné co nejrychleji regenerovat chybějící část tkáně či těla, můžeme předpokládat, že při srovnávání jedinců téhož druhu rychleji poroste peří těm, kteří jsou v lepší tělesné kondici (Grubb 2006). Šířka růstového proužku prokazatelně souvisí s nutriční kondicí majitele pera (Grubb 1995). Nutriční kondice zároveň může sloužit k odhadu budoucího reprodukčního úspěchu jedince neboli jeho fitness (Owen & Cook 1977). Obecně tak lze říci, že charakter růstových proužků souvisí s komplexní, nejen nutriční, kondicí jedince. Jediné ptačí pero je tedy cenným zdrojem informací i ukazatelem mnoha faktorů a událostí, které měly na růst pera vliv po celou dobu jeho vývoje.

1.4.5.1. Růst peří a metabolismus

V předchozích kapitolách již bylo uvedeno, že ptáci v tropech vykazují pomalejší BMR oproti ptákům v mírném pásu. S rychlostí metabolismu úzce souvisí dostupnost, a tedy příjem potravy. V tropech je díky chybějící sezonalitě prostředí potravní nabídka víceméně stálá, kdežto v temperátu se střídají měsíce nadbytku a „chudoby“. Jedním z hlavních předpokladů a paradigmat ptilochronologie je přímý vztah šířky růstových proužků s nutriční kondicí, kdy platí, že redukce šířky proužků indikuje zhoršenou výživu jedince (Grubb 2006). Wiersma & Verhulst (2005) na základě experimentů se zebříčkami pestrými (*Taeniopygia guttata*) zjistili, že s klesající dostupností potravy klesá rychlost metabolismu a nově rostoucí ocasní pera dosahují prokazatelně kratších rozměrů, než pera narostlá za běžných potravních podmínek (až -4 % délky pera). Autoři při tomto manipulačním experimentu neměřili jednotlivé růstové proužky, a není tedy známo, zda se lišila rychlost růstu per. Ptáci tedy při nedostatku potravy šetří energii na úkor rozměrů peří, což je zřejmě výhodná strategie pro přežití těchto období. V dostupné literatuře jsem nenašla žádnou studii, která by se věnovala vztahu mezi metabolismem v době pelichání a růstem peří na mezidruhové úrovni. Zmíněné experimenty však naznačují, že se změnou metabolismu lze pozorovat změny i v investicích do opeření, a proto by se tyto změny mohly odehrávat také při porovnání tropických a temperátních ptáků, kde jsou rychlosti metabolismu patrně velmi odlišné.

Studií na téma rychlosti růstu per byly publikovány desítky, možná i stovky. Žádná z nich se ovšem nezabývala dorůstáním per na mezidruhové úrovni v rámci tak odlišných klimatických regionů jako je temperátní Evropa a rovníková Afrika. Díky dosavadním studiím existuje mnoho poznatků o faktorech ovlivňujících růst peří, ale vždy se jedná o srovnávání jedinců vystavených různým podmínkám na úrovni jednoho druhu (v podstatě převážná většina prací uvedená v knižní publikaci Grubb 2006, která se detailně věnuje ptilochronologii a jejímu využití) nebo několika málo různých druhů blízce příbuzných, a tedy s podobnými životními strategiemi (např. Langston & Rohwer 1996, Stratford & Stouffer 2001). Jaké jsou ale mezidruhové rozdíly v investicích do růstu per v tak odlišných regionech, jako jsou tropy a temperátní Evropa, dosud není známo.

Ptilochronologie představuje unikátní metodu zjišťování celkového fyzického stavu jedince a jako taková je skvělým nástrojem pro studium životních strategií ptáků. Vystavení

stresovým situacím či podmínkám se projeví na vzhledu peří, v důsledku čehož může být negativně ovlivněn celý jedinec i na delší časové období. Stresová odpověď je regulována a řízena z hlavního řídicího střediska endokrinního systému – hypothalamu. Endokrinní žlázy produkují sekrety – hormony – které chemickou komunikací přenášejí informace z místa sekrece do cílové tkáně a regulují tak metabolismus, růst a rozmnožování mnohobuněčných organismů (Adkins-Regan 2005). Hormony zároveň mohou ovlivňovat růst peří (Romero et al. 2005). Koncentrace hormonů, například kortikosteronu a testosteronu, je možné specifickými metodami z peří analyzovat (Bortolotti et al. 2008, Koren et al. 2012a).

V druhé části práce se zaměřím na metodologii stanovení hladin hormonů z peří divoce žijících ptáků.

1.5. Steroidní hormony v peří

1.5.1. Kortikosteron

Zvýšené hladiny kortikosteronu vyvolávají změny ve struktuře a zbarvení per a mají výrazně negativní vlivy na růstové rychlosti per (Romero et al. 2005, Jenni-Eiermann 2015). Byl také zjištěn negativní vliv na celkovou kvalitu per, se kterou souvisí efektivita letu a letové schopnosti, termoregulace a výběr partnera v době rozmnožování (DesRochers et al. 2009).

Měření kortikosteronu z peří se doposud zabývalo jen několik málo prací. Všechny však shodně uvádějí, že kortikosteron se do peří integruje z krevní plazmy během růstu pera (Bortolotti et al. 2008, Lattin et al. 2011, Fairhurst et al. 2013, Hůrak et al. 2013, Jenni-Eiermann et al. 2015 a Aharon-Rotman et al. 2017). Přesná dynamika ukládání kortikosteronu do pera a souvislost mezi jeho koncentracemi v peří a krevní plazmě stále není dostatečně známa (Romero & Fairhurst 2016). Ukazuje se však, že i jediná stresová událost se velmi pravděpodobně projeví zvýšenou koncentrací kortikosteronu v celé délce pera (Jenni-Eiermann et al. 2015). V několika studiích byly sledovány stresové odpovědi ptáků ve vztahu k jednotlivým segmentům pera, konkrétně pomocí zkvalitnění nebo naopak ochuzení potravy. Nutriční stres mláďat papuchalků růžkatých (*Cerorhinca monocerata*) se v perech projevil zvýšením koncentrací kortikosteronu (Will et al. 2014). Naopak u mláďat rybáků velkozobých (*Hydroprogne caspia*) byly v peří zjištěny snížené koncentrace, i přestože bazální a stresové hladiny v krevní plazmě se zvýšily (Patterson et al. 2014). Tyto opačné výsledky mohou být způsobeny rozdílnými reakcemi konkrétních ptačích druhů na nedostatek potravy – zatímco u papuchalků se nepříznivé období na vzhledu per téměř neprojevalo, u rybáků byly zjištěny redukované růstové rychlosti a hmotnosti per. Fyziologickou odpověď na změny prostředí sledovali Fairhurst et al. (2011) u ořešníků amerických (*Nucifraga columbiana*). Krátkodobý enrichment klecí (hračkami, balónky atd.) vyvolal zvýšené hladiny kortikosteronu v peří, zatímco dlouhodobá přítomnost nových podnětů vedla k nižším koncentracím.

1.5.2. Testosteron

První analýzu testosteronu z peří popsali Koren et al. (2012a). Autoři použili stejnou metodu jako Bortolotti et al. (2008), ale namísto radioimunoanalýzy použili vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii spojenou s hmotnostním spektrometrem (HPLC/MS). HPLC/MS umožňuje využití jediného vzorku pro stanovení více hormonů a je proto účinnější a přesnější, nicméně uvedený postup obsahoval mnoho nejasností a chyb a nebylo možno tuto metodu zopakovat (Adámková et al. in prep.). Dodnes nebyla provedena žádná analýza testosteronu z peří, která by dala do souvislosti hormonální vyladění jedince a charakter růstu peří.

1.5.3. Analýza hormonů z peří a rozdíly a výhody oproti analýze z krve

V těle obratlovců cirkuluje široká škála různých látek, mezi nimi i výše popsany kortikosteron a testosteron. Hormony (nebo jejich metabolity) mohou být měřeny ze slin, z potu, z mateřského mléka či srsti (Sheriff et al. 2011); u ptáků je nejčastěji využívána analýza z trusu (Palme et al. 2005), vajec (Love et al. 2008) a konečně z krve (Cook 2012) a peří (Bortolotti et al. 2008). Poslední dva zmíněné zdroje hormonů budou popsány detailněji v následujících odstavcích.

Úvodem je nutno zdůraznit, že analýzy hormonů z různých tělních tekutin, výměšků či kožních derivátů jsou mezi sebou relativně obtížně porovnatelné. Analýza z každé z těchto matric vypovídá o hormonálním vyladění jedince z různě dlouhých časových období. Dnes je již dobře prostudováno, že hladiny hormonů v těle ptáků přirozeně kolísají jak během dne a noci, tak i v průběhu roku. Například kortikosteron měřený z krve vykazuje nejvyšší koncentrace v noci, a naopak nejméně ho bylo naměřeno ve dne, kdy je většina ptáků aktivních (Rich & Romero 2001). Během roku jsou pak jeho koncentrace nejvyšší v době rozmnožování, což pravděpodobně souvisí s evolučním tlakem a adaptacemi, které ptákům umožňují přežít toto kritické období (Romero 2002). Uvedené kolísání je tedy potřeba brát při analýzách problematických zdrojů v potaz. Dalším úskalím mohou být podmínky samotného odběru vzorku a jeho následné skladování.

1.5.3.1. Analýza z krevní plazmy

Krev představuje klíčový zdroj informací o hormonálním vyladění již od 60. let 20. století (Frankel et al. 1967). Analýza z krevní plazmy je významná, běžně používaná metoda, jejíž podstatou je odběr vzorku krve z pažní nebo krční žíly (Fair et al. 2010). Krevní plazma je poté ze vzorku extrahována centrifugací; v případě, že není možné centrifugaci provést okamžitě, je nutné uchovat krev v chladu. Dlouhotrvajícím skladováním necentrifugované ptáci (ale i savčí a plazi) krve v ní může docházet k signifikantním změnám jako je například úbytek glukózy či únik intracelulárních složek (Boyanton & Blick 2002).

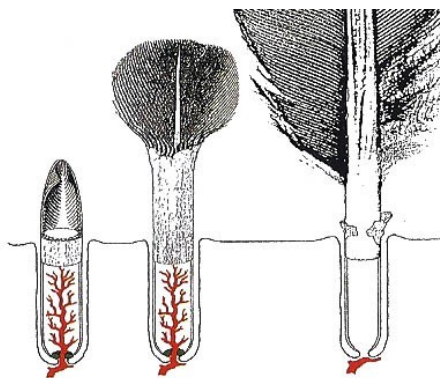
Pro zjištění klidových hodnot hormonů z krevní plazmy je nezbytné odebrat vzorek do několika málo minut po samotném odchytu jedince. Za dostačující hraniční dobu je obecně přijímán časový úsek do 3 minut. Při nedodržení tohoto pravidla dochází vlivem stresu z odchytu a manipulace ke zvyšování koncentrací stresových hormonů v krvi a potažmo k ovlivnění výsledků experimentu (Littin & Cockrem 2001). Uvedená doba vychází ze studie Romero & Reed (2005), ve které autoři u 945 jedinců 6 ptačích druhů určili odběr krve do 2 minut jako ideální, do 3 minut jako dobu dostačující k určení bazálních hodnot jimi sledovaného kortikosteronu. Po 3. minutě je průběh stoupání ke stresovým hodnotám druhově specifický. U kurů domácích (*Gallus gallus* f. *domestica*) je například klidový stav kortikosteronu v rozmezí 0,42 – 6,04 ng/ml, v 15. minutě nabývá svého maxima, tj. až 19,64 ng/ml, a bazálních koncentrací dosahuje opět ve 40. minutě po odchycení (Littin & Cockrem 2001). Z krevní plazmy lze tedy získat aktuální koncentrace vybraného hormonu v těle. Zároveň je možné z krevního vzorku současně zanalyzovat kupříkladu hladinu glukózy, hematokrit nebo početnost leukocytů jakožto ukazatele stavu energetických zásob, kondice a imunity (Sheriff et al. 2011). Tyto proměnné poté můžeme porovnávat právě se sledovanými hormony, navzájem mezi sebou atd.

Přestože je analýza hormonů z krevní plazmy běžně používanou metodou s bezmála 60letou tradicí, nese s sebou jistá nezanedbatelná rizika. Prvním je již zmíněná citlivost ptáků na jakoukoliv manipulaci, kdy u nich dochází k navýšení hladiny stresových hormonů do nepredikovatelných hodnot, a proto je dodržení 3minutového časového limitu nezbytností. Odběr vzorků krve je metoda invazivní a metodicky riziková zejména u volně žijících živočichů. Ještě před samotným odchytom totiž mohl být jedinec vystaven celé škále

faktorů, které ovlivnily jeho krevní obraz. Pták mohl před několika desítkami minut například prchat před predátorem, bránit hnízdo, soupeřit s konkurentem o partnera či potravu atd., což jsou aktivity, které nepochybně ovlivňují koncentrace hormonů v krvi, a které předem zpravidla nelze zjistit. Nikdy tedy není jisté, že vzorek odebraný do uvedených 3 minut je opravdu zdrojem hodnot bazálních. Další potíž je s množstvím odebíraného vzorku. Obvykle je za bezpečnou hodnotu považován objem krve odpovídající 1 % hmotnosti ptáka; větší množství by mohlo ohrozit jeho život (Fair et al. 2010). Pro představu, nejmenší pták Evropy králíček obecný (*Regulus regulus*) váží 4,6 – 7,1 g (Handbook of the Birds of the World Alive, <https://www.hbw.com>), což znamená odběr krve o objemu maximálně 0,046 – 0,071 ml. Podobné zákroky samozřejmě vyžadují značnou dávku zručnosti a praxe, nehledě na potřebná povolení. Odběr provedený nesprávným způsobem může pro ptáka znamenat nejen obrovský stres, ale v horším případě dokonce smrt.

1.5.3.2. Analýza z peří

V době svého vývoje a růstu jsou pera ptáků bohatě zásobena krví skrze brk. Hormony včetně kortikosteronu a testosteronu jsou během tohoto období společně s dalšími látkami ukládány do keratinové struktury pera až do ukončení jeho růstu, kdy dojde k přerušení napojení na krevní oběh, a tedy i k zastavení depozice všech látek (Obr. 13). Ukládání hormonů do tkání se kromě peří ptáků týká také ostatních derivátů pokožky dalších živočichů, jako jsou například vlasy či chlupy savců, čehož je dnes běžně využíváno například ve sportovním odvětví při kontrolách na doping nebo ve forenzní a environmentální toxikologii (Gow et al. 2010).



Obrázek 13. Schématické znázornění prokrvení ptačího pera během růstu. Zdroj: [online].

Prvním a nejzásadnějším z benefitů analýzy hormonů z peří je získání dlouhodobé informace o hormonálním vyladění ptáka v celé době růstu analyzovaného pera. Oproti analýze z krevní plazmy jsme schopni udělat si obrázek o stavu jedince nejen v den jeho odchytu, ale i po dobu uplynulých týdnů či měsíců (Bortolotti et al. 2008). Výhodou je také pevná vazba hormonů na keratin a stabilita v čase. V perech starých 80 let nebyl prokázán pokles hladin kortikosteronu; ani vystavení extrémním teplotám (75 °C po dobu 30 minut) nemá na hormony v perech vliv (Bortolotti et al. 2009). Díky tomu je umožněno jejich skladování bez speciálních nároků na klimatické podmínky, navíc téměř bez časového omezení. Na základě těchto faktů je umožněno detailnější studium exponátů uložených v archivech a muzeích nebo také nálezů uhynulých zvířat (Kennedy et al. 2013). Analýzy hormonů z per takových jedinců mohou přinést nové poznatky ohledně vývoje populačních trendů ptáků, změn způsobených degradací prostředí a dalších podstatných událostí uplynulých desetiletí. Z pohledu ochrany přírody jsou zmíněné údaje bezpochyby velmi cenné. Recentní vzorky můžeme porovnávat s historickými údaji ze sbírek a studovat celou škálu faktorů. Velkou výhodou je také povaha odběru vzorku – oproti analýzám z krve se zde jedná o metodu neinvazivní a takřka bezbolestnou.

Potenciální problémy analýzy hormonů z peří mohou pramenit z neznalosti typu pelichání zkoumaných ptačích druhů. Například dravci, dlouhokřídlí či sovy, ale i jiné velké druhy ptáků pelichají relativně nesourodě (letky přepeřují nekompletně), což znamená, že pokryv těla může být složen z peří narostlého ve více sezónách (Bortolotti et al. 2009). Z peří takovýchto jedinců je možné koncentrace hormonů analyzovat pouze s vědomím, že nebude znám přesný časový úsek doby růstu pera. Na druhou stranu u jiných skupin ptáků, například u pěvců, je charakter pelichání dobře prozkoumán. Neprobíhá u nich najednou, ale v sekvencích. Tato strategie umožňuje rozptýlit získané zdroje potřebné k obnově šatu a také uchovat symetričnost aerodynamického tvaru těla (Grubb 2006). Díky této strategii můžeme studovat koncentrace hormonů v perech rostoucích na zimovišti u migrujících druhů, což je důležité zejména proto, že konkrétní lokality, kde evropští dálkoví migranti zimují, nejsou dodnes dostatečně známy. Další nevýhodou může být kontaminace pera jinými částmi těla (např. v mazových žlázách se hormony vyskytují také), a proto je potřeba peří „mastnějších“ druhů před samotnou analýzou vhodně očistit (Jenni-Eiermann et al. 2015) a samozřejmě při manipulaci s pery preventivně používat pinzetu či ochranné rukavice. Důležitý je také způsob interpretace získaných koncentrací hormonů. Někteří autoři preferují vyjádření

hodnot hormonů ku hmotnosti pera (ng/g), jiní je vztahují k délce pera (ng/mm), a proto by srovnávání koncentrací v rámci dvou prací s odlišným vyjádřením mohlo být problematické.

Z výše uvedených informací vyplývá, že analýza hormonů z peří otevřela vědcům relativně nové pole působnosti pro nejrůznější experimenty. Je vhodná jak pro výzkum kvality per, jeho zbarvení či ornamentace, tak i pro monitoring populací v horizontu desítek let či pro mezidruhové srovnávání rozličných znaků souvisejících s biologii ptáků.

1.5.4. Techniky analýzy hormonů

K analýze hormonů se dnes využívá hned několika metod. Hormony jsou v krvi, peří a dalších tělesných tekutinách, výměšcích či kožních derivátech obsaženy ve velice malých koncentracích, a proto je stěžejním požadavkem na použité techniky hlavně jejich citlivost a specifita (Adkins-Regan 2005). Nejběžněji používanými jsou imunochemické a chromatografické analýzy. Alespoň částečná automatizace většiny ze současných analytických technik dovoluje jejich hromadné využívání; zároveň s sebou každá z nich nese jisté výhody i nevýhody (Bock 2000).

1.5.4.1. Radioimunologické a enzymatické analýzy

Radioimunologické a enzymatické analýzy jsou založené na vazbě antigenu a protilátky, a proto jsou obě dvě souhrnně označovány jako techniky imunochemické. Antigenem je látka, kterou chceme detekovat (např. testosteron nebo kortikosteron), protilátka obsahuje buď radioaktivní izotop (při technice RIA) nebo enzymy (při technikách EIA a ELISA), které slouží k označení daných hormonů (Bock 2000).

RIA

Radioimunoanalýza je metoda, pomocí níž byla vůbec poprvé změřena hladina inzulinu v krvi (Yalow & Berson 1960). RIA je dnes hojně využívanou technikou fungující na principu značení hormonů radioizotopy, nejčastěji ^{125}I a ^3H , přičemž získané koncentrace detekované látky se pohybují v řádech nanogramů/ml reakční směsi (Gow et al. 2010). Díky dlouhé době své existence je RIA plně optimalizovanou metodou s bohatou nabídkou

komerčních kitů (Möstl et al. 2005). Její nevýhody souvisejí zejména s používáním radioaktivních látek, které mohou být potenciálně nebezpečné, a pro jejichž manipulaci jsou potřeba specifická povolení a opatření. Nevýhodou je také limitovaná životnost činidel a nutnost vybavení laboratoře odpovídajícím typem detektoru pro vyhodnocení koncentrací látek (Bock 2000). Z těchto i dalších důvodů jsou v současnosti stále častěji preferovány možnosti enzymatických analýz.

EIA a ELISA

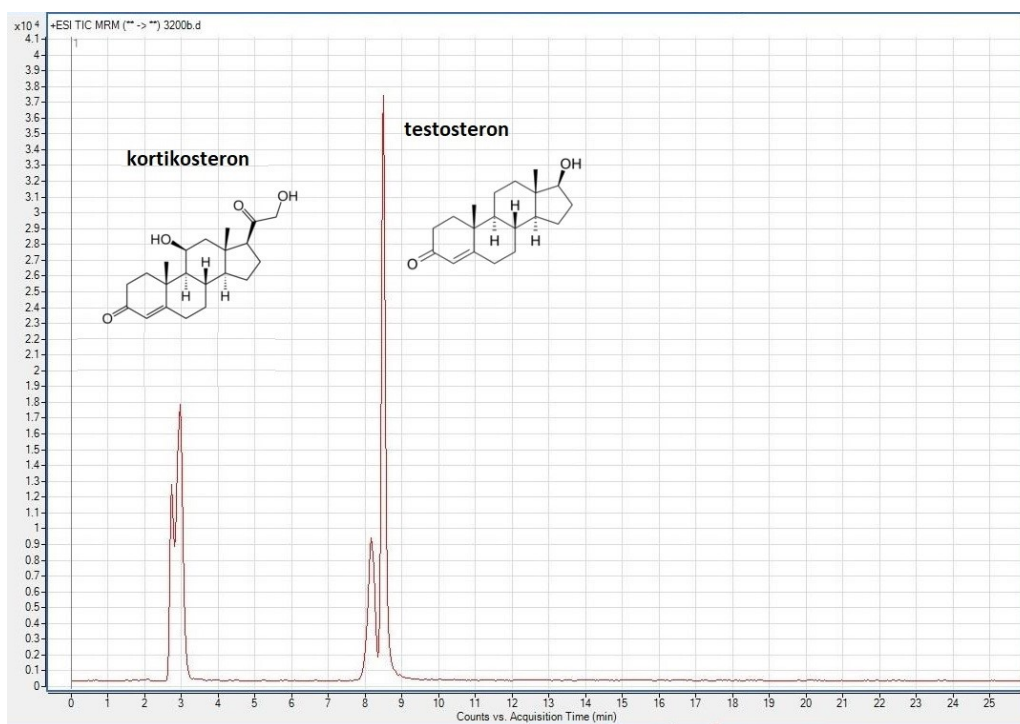
Enzymatické metody EIA (enzyme immunoassay) a ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) jsou si v mnohém podobné. Vycházejí z metody RIA, avšak ke značení se namísto radioizotopů používají enzymy (Gan & Patel 2013). Protilátky se získávají imunizací konkrétního živočicha, což znamená značnou časovou i finanční náročnost. Jednodušším řešením je využití komerčních protilátek z králíků, kde ale může docházet k problémům kvůli mezidruhovým rozdílům (Möstl et al. 2005). EIA i ELISA jsou oproti RIA efektivnější z hlediska rychlosti a provedení; nehledě na absenci potíží s radioaktivními látkami a odpady (Adkins-Regan 2005). Také limity detekce látek jsou s RIA srovnatelné. Velkou nevýhodou však představuje tzv. křížová reaktivita protilátek – ty se totiž kvůli neúplné specifitě navazují i na jinou než sledovanou látku, což může být při nízkých hladinách látek kritické (De Baere et al. 2014). Řešením tohoto problému může být následné analyzování technikou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (popsáno níže) pro určení dílčích složek (Möstl et al. 2005). Úskalí spočívá také v možnosti analýzy vždy pouze jedné vybrané molekuly, kdy je pro analýzu dalších látek potřeba celý proces kompletně zopakovat s novým vzorkem.

1.5.4.2. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC/MS)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (high performance liquid chromatography/mass spectrometry – HPLC/MS) je analytická metoda, která kombinuje schopnosti kapalinové chromatografie se strukturální identifikací látek a hmotnostní spektrometrie. Kombinací těchto dvou technik dochází ke spojení jejich separačních a detekčních schopností. HPLC/MS funguje následovně: studované látky jsou nejprve

separovány kapalinovou chromatografií a poté identifikovány na základě jejich hmotnostního spektra (Jelínek 2008). HPLC/MS se začala běžně používat v laboratořích od 90. let 20. století. Těto metodě předcházela plynová chromatografie s hmotnostní detekcí používaná od 50. let do roku 1980, kdy byl vynalezen elektrosprej poskytující řešení pro převod kapalně fáze na ionty (Pitt 2009).

Princip techniky HPLC/MS spočívá v průchodu zkoumaného vzorku přes specifickou kolonu. Vzorek je dále unášen mobilní fází přes fázi stacionární, kde se separuje podle rychlosti jeho průchodu na sekce. Výsledek této separace pokračuje na hmotnostní spektrometr, kde je potřeba transformovat analyzované molekuly na ionty. Toho je docíleno pomocí elektrospreje či jiného ionizátoru. Následuje disperze iontů a jejich rozdělení podle poměru hmotnosti a náboje v hmotnostním analyzátoru. Tok iontů dále dopadá na detektor signalizující impuls v závislosti na počtu dopadajících iontů. Impuls se pomocí počítače převede do hmotnostních spekter a výsledek je zaznamenán do chromatogramu (Jelínek 2008, Pitt 2009). Chromatogram znázorňuje množství analyzované látky, jejíž peak porovnáme se standardem a takto určíme koncentraci látky (Obr. 14).



Obrázek 14. Chromatogram z HPLC/MS z analýzy kortikosteronu a testosteronu z peří. Na ose X je vyznačen čas v jednotkách minut, na ose Y pak plocha peaku (bez jednotek). Zdroj obrázků vzorců: [online]. Foto chromatogramu: archiv Marie Kotasové Adámkové (2017).

HPLC/MS s sebou nese jisté nevýhody v podobě relativně vysokých pořizovacích nákladů nezbytného technického vybavení. Oproti metodám RIA, EIA a ELISA jsou provozní náklady ovšem nesrovnatelně nižší, protože není nutné po každé analýze pořizovat nová činidla. Chromatografická kolona se ovšem musí preventivně chránit před zanášením, takže je třeba vkládané vzorky dostatečně čistit a počítat tak s případnou vyšší časovou náročností (Möstl et al. 2005). Vzhledem ke komplexnímu provedení a náročnosti postupu je při HPLC/MS nutná kvalifikovaná obsluha přístrojů.

Zásadní výhody HPLC/MS spočívají v možnosti analyzovat větší počet různých látek z jediného vzorku. Krevní vzorky odebírané divokým zvířatům jsou často limitované objemem, a proto je tato varianta velmi vítaná (Koren et al. 2012b). Druhou výhodou je dosažení vyšší specifity díky tomu, že nedochází ke křížové reaktivitě a nespecifickým prolínáním, jako je tomu u technik EIA a ELISA (Möstl et al. 2005).

2. CÍLE PRÁCE

Prvním cílem této diplomové práce je srovnání růstové rychlosti rýdovacích per ptáků obývajících temperátní Evropu oproti ptákům z tropického Kamerunu metodou komparativní ptilochronologie. Analýza růstových proužků u druhů žijících v rozdílných zeměpisných šířkách může prostřednictvím zjištění rychlosti růstu těchto per pomoci blíže pochopit, jakým způsobem ptáci s rozdílnou úrovní metabolismu investují do růstu pera, a touto cestou zároveň přinést nové znalosti o pace of life syndromech těchto živočichů.

Druhým cílem práce je analýza kortikosteronu a testosteronu z peří vybraných druhů pěvců České republiky pomocí HPLC/MS za využití nové, dosud nepublikované metody a stanovení vztahu mezi koncentracemi těchto hormonů a rychlostí růstu pera. Analýza hormonů z peří je rozvíjející se metoda, a její kombinace s ptilochronologickými údaji pera by mohla být efektivním nástrojem pro zjišťování dlouhodobého stavu jedince a na mezidruhové úrovni posloužit k testování rozdílů v hladinách steroidních hormonů u tropických a temperátních druhů s využitím jiné matrice, nežli je tradičně používaná plazma, a též k objasnění mechanismů vedoucích k rozdílné investici do opeření u tropických a temperátních druhů pěvců.

Cíle této diplomové práce jsou:

1. srovnání tropických a temperátních druhů pěvců metodou komparativní ptilochronologie
 - a. analýza růstových proužků za účelem zjištění rychlostí růstu ocasních per
 - b. srovnání rychlostí růstu ocasních per tropických a temperátních pěvců v souvislosti s typem migrace a místem pelichání
2. analýza hladin hormonů kortikosteronu a testosteronu z peří vybraných druhů pěvců severního temperátu (Evropy) metodou HPLC/MS
 - a. stanovení opakovatelnosti v měření hormonálních profilů v perech a variačního koeficientu pro pravé a levé ocasní pero

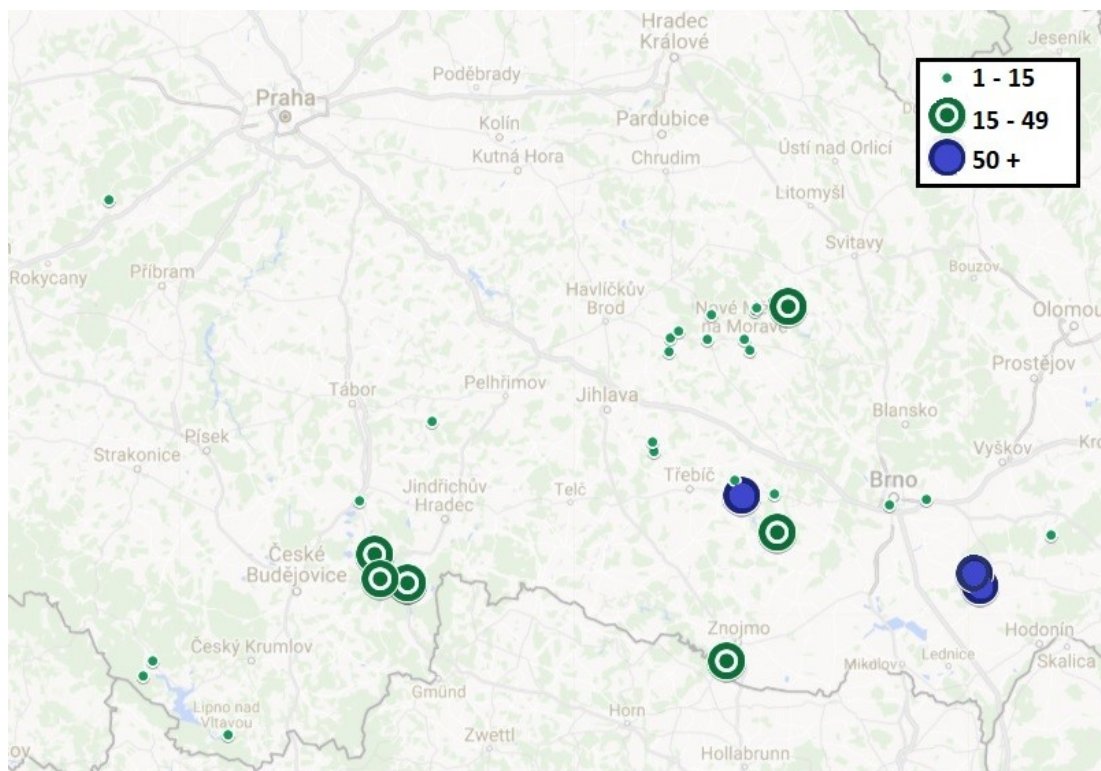
- b.** stanovení opakovatelnosti v měření ptilochronologických znaků a variačního koeficientu pro pravé a levé ocasní pero
- c.** stanovení vztahu mezi koncentracemi hormonů kortikosteronu a testosteronu a rychlostí růstu pera

Předpokládám, že na základě publikovaných zjištění týkajících se rychlosti života tropických ptáků v porovnání s ptáky mírného pásma by měl i růst peří odrážet odlišné životní strategie těchto ptáků. Růstové rychlosti by měly být v africkém Kamerunu pomalejší z důvodu nižší míry metabolismu, absence sezonality a stabilní, ale celkově nižší potravní nabídky. Temperátní dálkoví migranti pelichající v tropech mohou vykazovat stejné růstové charakteristiky peří jako tropičtí rezidenti, ovšem mohou naopak do růstu per investovat více, což může souviset s vyšší mírou metabolismu, čímž se přiblíží úrovni typické pro temperátní rezidenty a migranty na krátké vzdálenosti. U analýzy hormonů z peří předpokládám souvislost jejich koncentrací s rychlostmi růstu jednotlivých per. Opakovatelnost měření hormonálních profilů a ptilochronologických znaků by měla být dle dosud nepublikovaných výsledků naší metodiky vysoká (Adámková et al. in prep.).

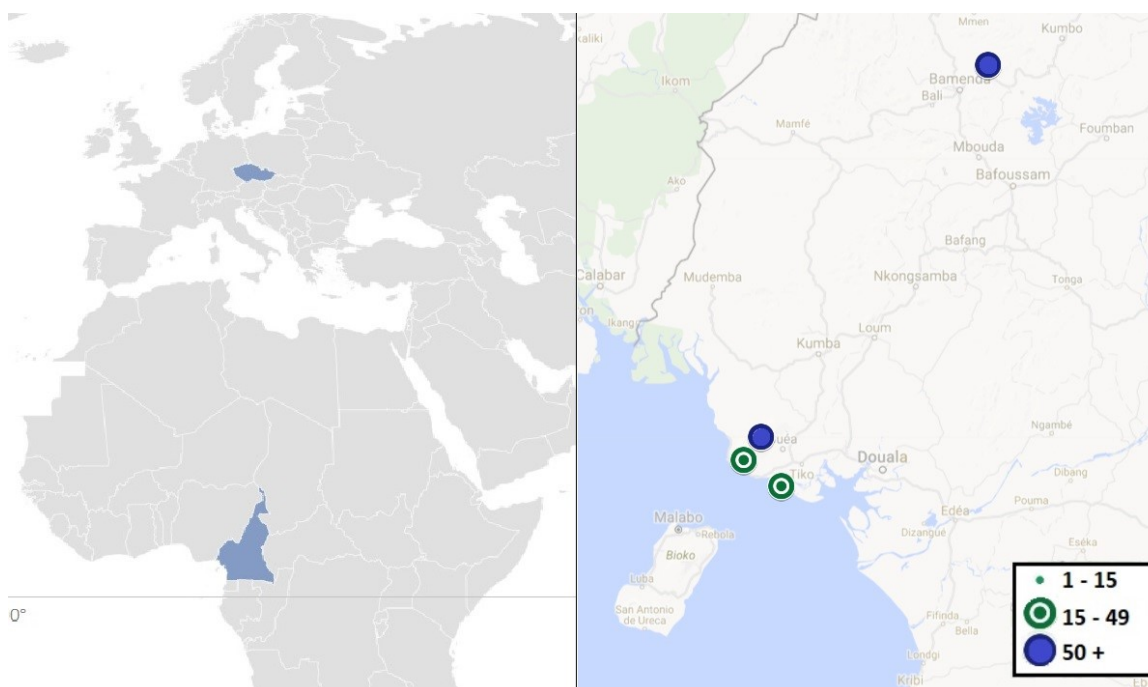
3. Materiál a metodika

3.1. Studovaná území a sběr dat

Tato diplomová práce je zaměřena na studium opeření pěvců z území temperátní Evropy a tropické Afriky. Česká republika jakožto středoevropský stát nacházející se v rozmezí 48°33'06" a 51°03'20" severní šířky reprezentuje lokalitu s podmínkami mírného pásma Evropy. Kamerun se rozkládá na území mezi 1°39'27" a 13°04'57" severní šířky a jako takový patří mezi státy tropické rovníkové Afriky. Na území ČR probíhal sběr dat na 36 lokalitách, převážně v Jihočeském a Jihomoravském kraji a na Vysočině (Mapa 1). V Kamerunu byly odchyťové lokality 4 (Mapa 2).



Mapa 1. Odchyťové lokality v České republice. Jednotlivé značky znázorňují počet odchytených jedinců v dané lokalitě; nejvíce dat pochází z obce Studenec (175), Bohumilice (88) a Krumvír (50). Zdroj: Google maps (<https://maps.google.com>)



Mapa 2. Odchytyvé lokality v Kamerunu. Jednotlivé značky znázorňují počet odchycených jedinců v dané lokalitě; nejvíce dat pochází z jižního svahu Kamerunské hory (152) a z blízkosti vesnice Babanki (55). Zdroj: Google maps (<https://maps.google.com>).

3.1.1. Odchyty ptáků

Data byla za účelem ptilochronologických analýz na obou územích pořizována v průběhu 6 let (2013–2016 a 2018); pro potřeby analýzy hormonů na území ČR v průběhu roku 2017. Na všech lokalitách byli ptáci odchyťováni do standardních nárazových odchytyových sítí. Všichni jedinci byli změřeni a byl jim odebrán vzorek peří z ocasu (2. pero směrem z vnějšku z pravé strany ocasu pro potřeby ptilochronologických analýz; jedno pero z pravé a jedno z levé strany ocasu (2. pero směrem z vnější strany) pro potřeby analýzy hormonů). Byli určeni adultní a tohoroční jedinci, a pokud to bylo možné, i další věkové kategorie. Pohlaví bylo nejprve určeno podle zbarvení opeření či dříve zaznamenaného zpěvu u odchyceného jedince, následně pak na základě odběru vzorku spermií pro potřeby paralelně probíhajícího výzkumu. Nakonec byli ptáci okroužkováni a vypuštěni. Pera byla jednotlivě uložena v plastových sáčkích se zámkem a uchována ve tmě při pokojové teplotě. Jedinci odchycení vícekrát byli do analýz zahrnuti pouze jednou.

3.1.1.1. Přítomnost juvenilních jedinců

Juvenilní jedinci byli určeni na základě specifických nedospělých znaků, jako jsou měkké koutky zobáku, nedorostlé opeření či odlišně zbarvené opeření. Pokud určení kategorie juvenil/adult nebylo z jakéhokoli důvodu možné, byl tento fakt zaznamenán. Juvenilní a nekategorizovaní jedinci nebyli do analýzy zahrnuti.

3.1.2. Typy migrace

Významné přírodní bariéry, jako jsou Alpy, Středozemní moře a Sahara, představují pro evropské migrující ptáky hranice, které je staví před volbu, zda bariéru obletět, zdolat či migraci ukončit. Aktivita spojená s migrací klade na organismus značné energetické nároky. Růst pera a strategie investic do opeření může souviset s potřebou letu. Mnozí migranti pelichají v Africe, a poskytují nám tedy cenné srovnání s africkými druhy pelichajícími ve stejných podmínkách. Tento faktor je proto vhodné v analýzách zohlednit. Ptáci byli rozděleni do následujících kategorií:

- *Temperátní rezidenti a migranti na krátké vzdálenosti*
druhy hnízdící na našem území; zimoviště na našem území nebo severně od Sahary
- *Dálkoví migranti*
druhy hnízdící na našem území; zimoviště v subsaharské Africe
- *Tropičtí rezidenti*
druhy tropické, nemigrující

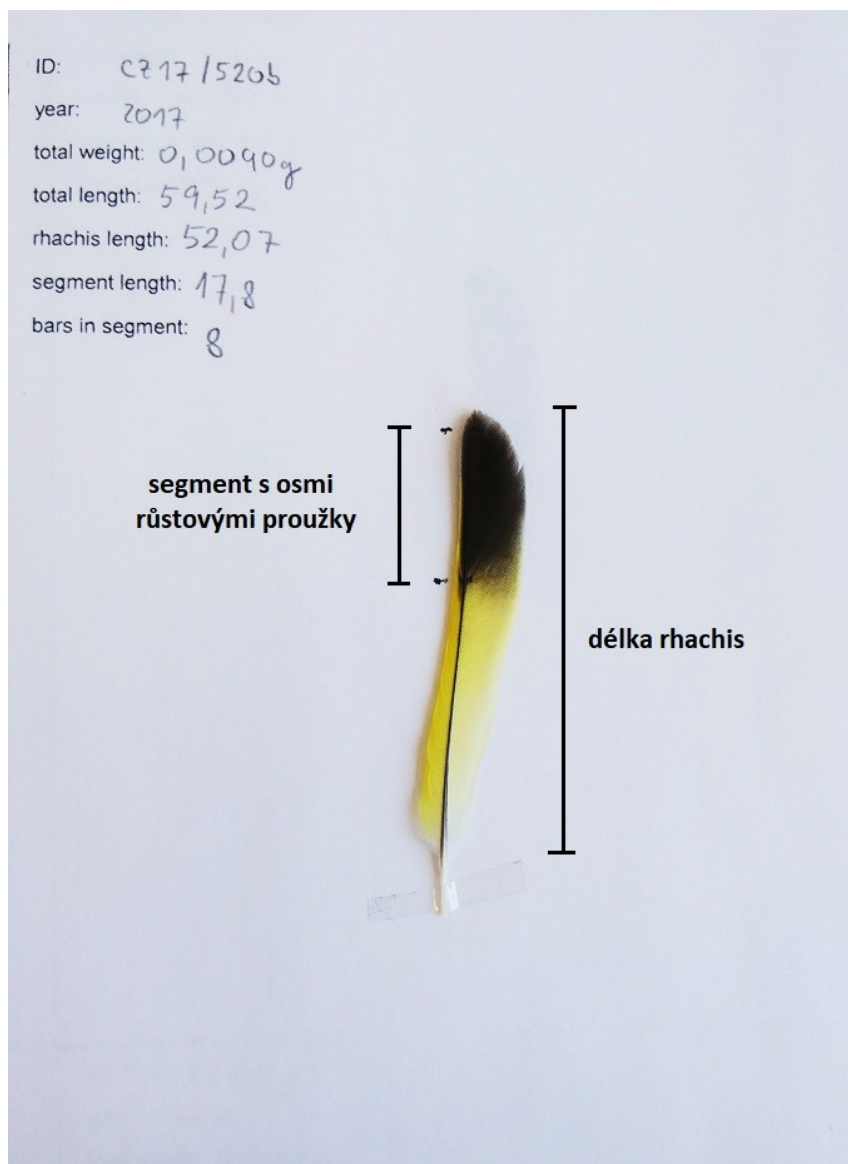
3.1.3. Typy pelichání

Tropičtí rezidenti, temperátní rezidenti a migranti na krátké vzdálenosti pelichají ocasní pera v podmínkách hnízdiště. Dálkové migranty je možno rozdělit do dvou kategorií podle toho, zda jim ocasní pera pelichají před migrací (na hnízdišti) nebo po migraci (na zimovišti). Ze všech odchycených druhů byl zástupce dálkových migrantů pelichajících před

migrací pouze jeden, a to lejsek bělokrký (*Ficedula albicollis*). Z důvodu takto limitovaného vzorku nebylo srovnání znaků v rámci uvedených kategorií možné.

3.2. Ptilochronologická analýza

Každé jednotlivé ocasní pero bylo zváženo s přesností na 0,0001g na analytických vahách (Analytical balance ACJ 220-4M, KERN, Německo). Pera byla tenkým proužkem transparentní lepící pásky v oblasti brku připevněna na protokol. Následně byla digitálním posuvným měřítkem (Digital Caliper 150 mm, MITAKO, Čína) s přesností na 0,01 mm změřena celková délka každého pera od báze brku po konec praporu a délka ostnu, která odpovídá délce praporu. Směrem od distální části pera byl vybrán segment čítající průměrně 10 (minimálně 7 a maximálně 11) růstových proužků, tvořených vždy tmavým a světlým pruhem. Tento segment byl permanentním lihovým popisovačem vyznačen na osten pera a změřen digitálním posuvným měřítkem (Obr. 15). Pokud byl na peru přítomen kazový proužek, byla tato informace zaznamenána do protokolu. Následně proběhlo přepsání dat do databáze, okopírování a oskenování protokolů, a jejich uložení do archivu. Počet růstových proužků v segmentu byl poté sečten a byla vypočtena růstová rychlost pera v mm/24 hodin jako podíl délky segmentu a počtu růstových proužků v něm obsažených. Podílem délky rhachis a růstové rychlosti byla nakonec vyjádřena celková doba růstu plně vyvinutého pera.



Obrázek 15. Pracovní protokol s ocasním perem zvonka zeleného (*Chloris chloris*) s vyznačenými sekcemi hodnocenými při ptilochronologické analýze. Uvedené rozměry jsou v milimetrech.

3.3. Analýza hladin hormonů z peří

Odchyceným jedincům bylo odebráno vždy jedno rýdovací pero z pravé a jedno rýdovací pero z levé strany ocasu (2. v pořadí z vnější strany). Každému peru byl odstraněn brk a poté bylo pero zváženo s přesností na 0,0001g na analytických vahách (Analytical balance ACJ 220-4M, KERN, Německo). Kortikosteron i testosteron byly analyzovány z opeření prostřednictvím vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC/MS). Vzhledem k nejasnostem v postupu Koren et al. (2012a) bylo třeba použít

upravenou metodu, která by umožnila stanovit hladinu testosteronu v relativně malém vzorku opeření (Adámková et al. in prep.) Pro účely analýzy bylo peří jednotlivě umístěno do mikrozku mávek a mechanicky rozdrceno za pomoci kulového mlýnu (Mixer Mill MM 200, Retsch, Německo). K rozdrcenému peří byl poté přidán metanol a takto připravené vzorky byly usazeny do třepačky (Orbital Shaker PSU-10i, Biosan, Litva), kde po dobu následujících 24 hodin probíhala extrakce. Poté byly vzorky umístěny na centrifugu (Hettich Universal 320, Hettich, Německo) kde došlo k oddělení čistého extraktu od peří. Výsledkem tohoto postupu byly 2 ml extraktu, které nakonec byly analyzovány prostřednictvím HPLC/MS na pracovišti Centra pro výzkum toxických látek v prostředí (RECETOX) na Masarykově univerzitě v Brně.

3.4. Statistická analýza

Informace o perech získané výše uvedeným postupem byly zaneseny do databáze v programu Microsoft Excel. Z ptilochronologické databáze jsem vyřadila jedince s kazovými proužky, protože kazové proužky narušují pravidelnost růstu pera. Výsledný dataset pro účely ptilochronologické analýzy čítal 884 jedinců a jejich ocasních per (od 29 temperátních a 12 tropických druhů pěvců); vždy minimálně 3 jedinci/pohlaví/druh (celková tabulka viz Příloha 2). Dataset pro účely analýzy hormonů obsahoval celkem 50 ocasních per od 25 samců 5 druhů českých pěvců, a to vždy pravé a levé pero od 1 jedince. Do analýz byly zahrnuty následující proměnné.

Proměnné v ptilochronologické databázi:

- *Druhově specifická hmotnost těla*

Informace o hmotnosti každého druhu byly získány z Handbook of the Birds of the World Alive (<https://www.hbw.com>) stanovením aritmetického průměru uvedených hmotností samic a samců.

- *Hmotnost pera (mg)*
- *Celková délka pera (mm)*
- *Délka rhachis (mm)*
- *Růstová rychlost rhachis (mm/den)*
- *Doba růstu rhachis (dny)*

- *Klima (místo hnízdění, tropy / temperát)*
- *Latituda (temperátní rezidenti a migranti na krátké vzdálenosti/dálkoví migranti/tropičtí rezidenti)*

Proměnné v databázi pro analýzu hormonů:

- *Koncentrace kortikosteronu (pg/g)*
- *Koncentrace testosteronu (pg/g)*
- *Hmotnost rhachis (g)*
- *Délka rhachis (mm)*
- *Růstová rychlost rhachis (mm/den)*
- *Doba růstu rhachis (dny)*

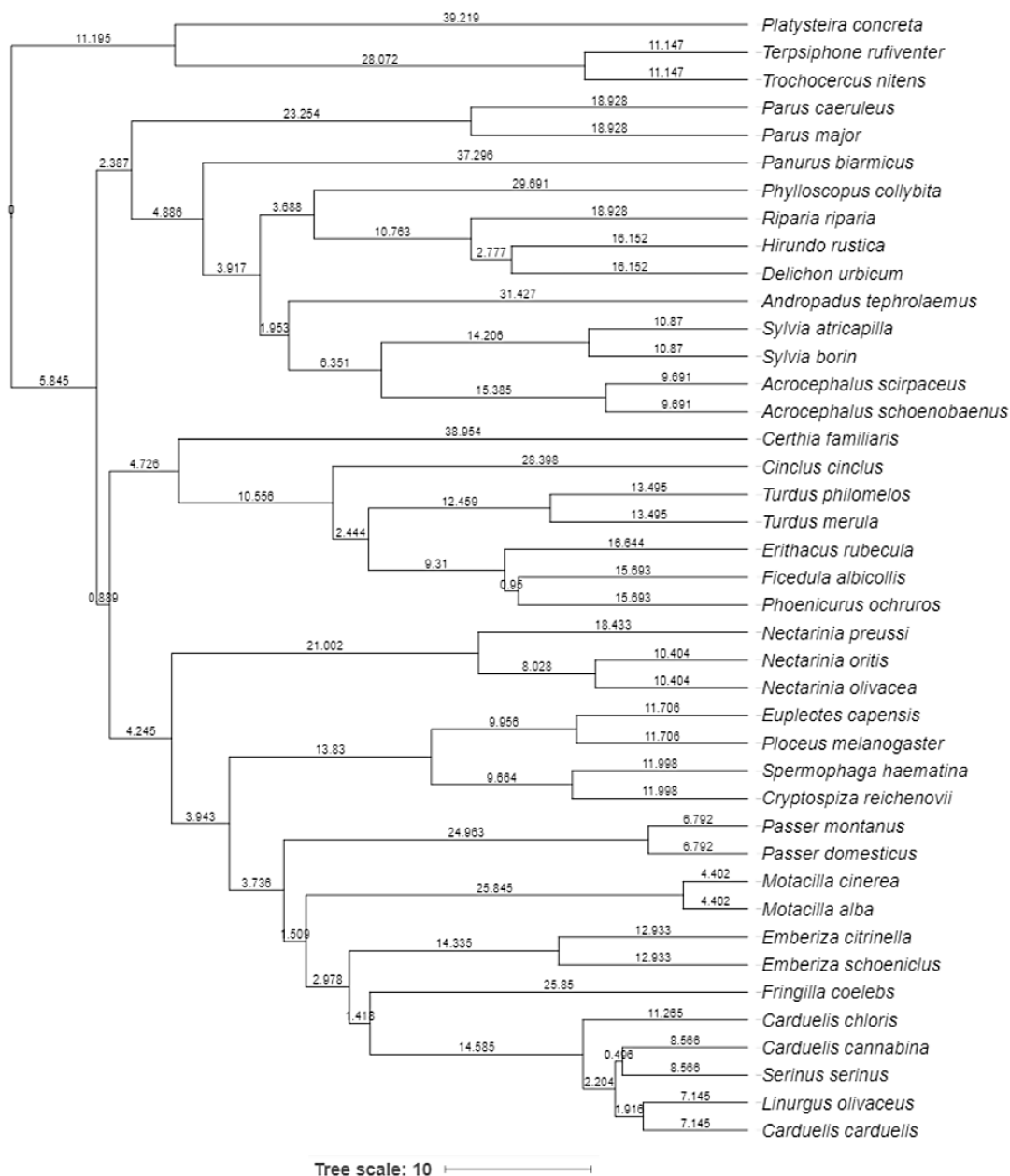
3.4.1. Taxonomická analýza

Taxonomické zařazení studovaných druhů do rodů a čeledí bylo provedeno na základě Handbook of the Birds of the World Alive (<https://www.hbw.com>). Mezipohlavní rozdíly v růstových rychlostech rhachis a vliv klimatu na růstové rychlosti rhachis byly testovány lineárními mixovanými modely za použití funkce *lme* v balíčku *nlme* (Pinheiro et al. 2014), kde náhodný efekt byl hierarchický a obsahoval jednotlivé taxonomické kategorie (čeleď/rod/druh).

3.4.2. Fylogenetická analýza

Pro určení fylogenetických příbuzností ptáků byl využit internetový portál Bird Tree (<https://www.birdtree.org>), globální fylogenetická databáze pojímající kolem 10 000 ptačích druhů (Jetz et al. 2012 a 2014), vycházející převážně z molekulárních dat. Některé aktuálně uznávané názvy druhů bylo nutné v taxonomické databázi Bird tree vyhledat pod starším názvem (aktuálně uznávané názvy druhů podle <https://avibase.bsc-eoc.org> viz Příloha 2). Pomocí programů Tree Annotator v. 1.8.4. a Fig Tree v. 1.4.3. byl poté vygenerován nejpravděpodobnější fylogram z 1000 různých fylogenezí pro všech 41 studovaných druhů (Obr. 16) ve formátu Newick (kód stromu viz Příloha 1). Tento fylogram byl následně použit

pro analýzu významných znaků ve fylogenetickém kontextu (phylogenetic generalized least square; PGLS) v programu R za použití funkcí *compar.gee* v balíčku *ape* (Paradis et al. 2004). Počáteční plné modely byly vždy pomocí funkce *drop1* zjednodušeny za účelem nalezení minimálního adekvátního modelu. Funkce *contMap* v balíčku *phytools* (Revell 2012) byla využita k vytvoření fylogenetického stromu mapujícího reziduály z fylogenetické regrese.



Obrázek 16. Fylogenetická hypotéza použitá při výpočtech na ošetření fylogenetických vztahů mezi studovanými taxony.

3.4.3. Analýza opakovatelnosti

Opakovatelnost (repeatability) je důležitý index pro kvantifikaci přesnosti měření a stálosti pozorovaných jevů mezi jedinci nebo mezi skupinami (Nakagawa & Schielzeth 2012). Opakovatelnost měření vybraných znaků levých a pravých per (koncentrace kortikosteronu a testosteronu, hmotnost a růstová rychlost rhachis) byla měřena v programu R pomocí balíčku *rptR* (Stoffel et al. 2017). Pro vyjádření variability naměřených hodnot byl použit koeficient variance CV (Sokal & Rohlf 1981), spočítaný podle vzorce $CV = \frac{SD}{x}$ (kde SD = směrodatná odchylka, x = aritmetický průměr naměřených hodnot).

4. VÝSLEDKY

4.1. Ptilochronologická analýza

4.1.1. Vliv pohlaví a klimatu na růstovou rychlost rhachis

Ptilochronologická data od 884 jedinců (29 temperátních a 12 tropických druhů pěvců) byla nejprve testována na rozdíly v individuálních růstových rychlostech rhachis mezi samci a samicemi při kontrole na taxonomii. Vliv pohlaví a klimatu na rychlost růstu rhachis byl testován s využitím lineárních mixovaných modelů. Nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v růstových rychlostech rhachis mezi pohlavími ($p=0,107$, $N=884$ pozorování, 368 samic, 516 samců). V druhém modelu byl potvrzen signifikantní vliv klimatu na růstové rychlosti. U ptáků z tropů byla zjištěna pomalejší růstová rychlost rhachis oproti druhům z temperátní zóny ($p=0,002$, $N=884$ pozorování, 256 tropických jedinců, 628 temperátních jedinců). Výsledky jednotlivých modelů jsou zobrazeny v tabulce (Tab. 1).

Tabulka 1. Výsledky analýz ze dvou modelů testujících závislosti individuálních rychlostí růstu rhachis pera na pohlaví a klima v taxonomickém kontextu.

Proměnná	Sklon	SE	t	p
Pohlaví	0,014	0,009	1,612	0,107
Klima	-0,236	0,059	-3.995	0,002

4.1.2. Vliv latitudy na délku rhachis

Protože nebyl potvrzen vliv pohlaví na rychlost růstu pera, byla pro následující komplexnější fylogenetickou analýzu použita data v podobě průměru sledované proměnné na druh. Délka rhachis v závislosti na latitudě (temperátní migranti (= temperátní rezidenti + migranti na krátkou vzdálenost), dálkoví migranti a tropičtí rezidenti) byla testována při kontrole na logaritmovanou hmotnost těla pomocí funkce *compar.gee* v balíčku *ape*. Zdrojem fylogenetických vztahů byl fylogenetický strom vygenerovaný postupem popsaným výše. Nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly mezi délkou rhachis a jednotlivými komponentami latitudy ($p > 0,05$; $N = 41$ pozorování). Výsledky počátečního plného modelu zobrazuje tabulka (Tab. 2). Po jeho zjednodušení příkazem *drop1* byl nalezen minimální adekvátní model (Tab. 2a) obsahující logaritmovanou tělesnou hmotnost a latitudu, přičemž odstranění logaritmované tělesné hmotnosti z tohoto modelu vedlo ke zhoršení modelu ($F = 2,798$, $df = 2$, $p = 0,090$). Celkový efekt latitudy byl v minimálním adekvátním modelu slabě signifikantní. Byl zjištěn signifikantní pozitivní vztah mezi délkou rhachis a logaritmovanou hmotností těla ($p < 0,001$). Jak bylo předpokládáno, hmotnější druhy měly delší rhachis.

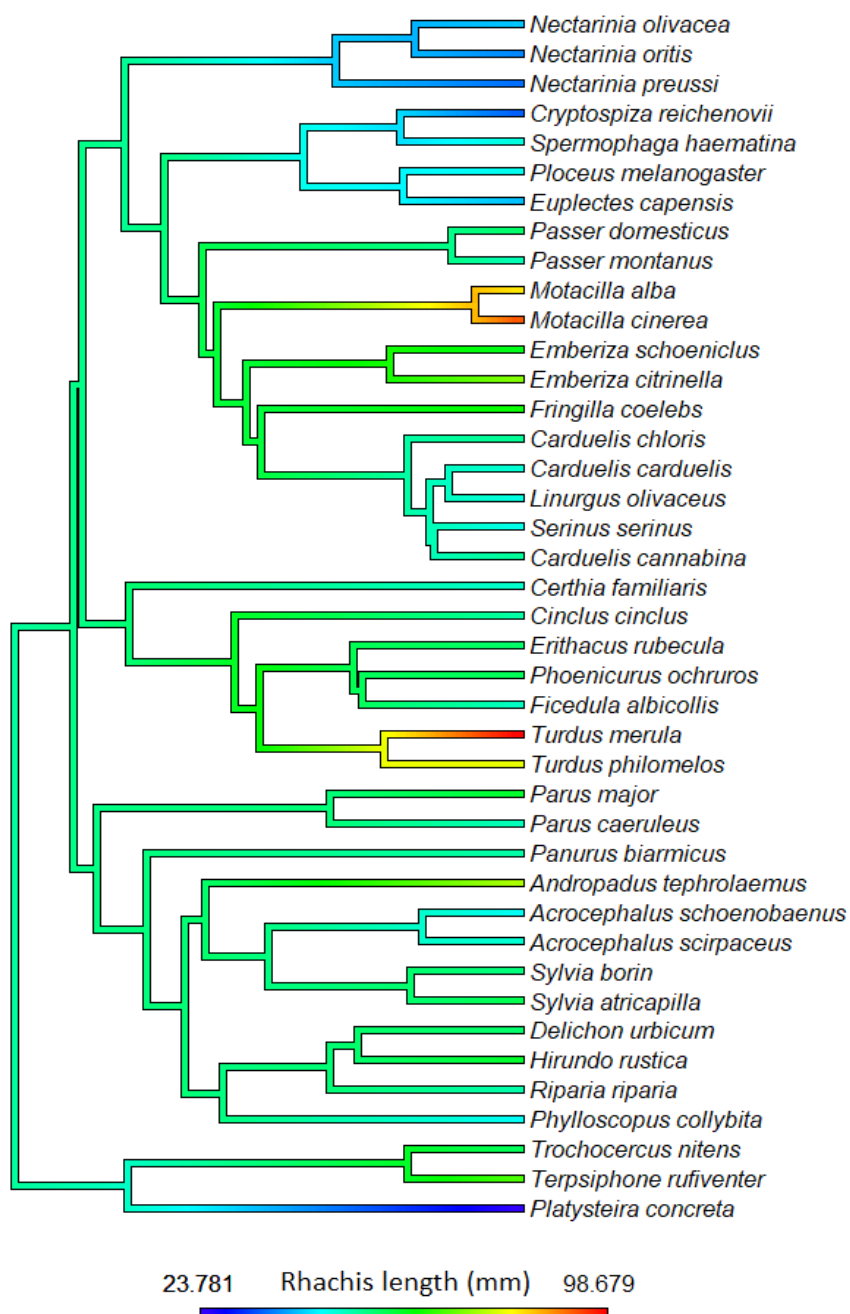
Tabulka 2. Počáteční plný model pro závislosti vybraných proměnných, kde závislá proměnná byla délka rhachis.

Proměnná	Sklon	SE	t	p
(Intercept) Dálkoví migranti	9,555	9,329	1,024	0,322
Temperátní migranti + rezidenti	2,687	4,253	0,632	0,537
Tropičtí rezidenti	-5,415	5,324	-1,017	0,325
Tělesná hmotnost_{log}	15,735	2,902	5,422	<0,001

Tabulka 2a. Minimální adekvátní model vytvořený z počátečního plného modelu (Tab. 2).

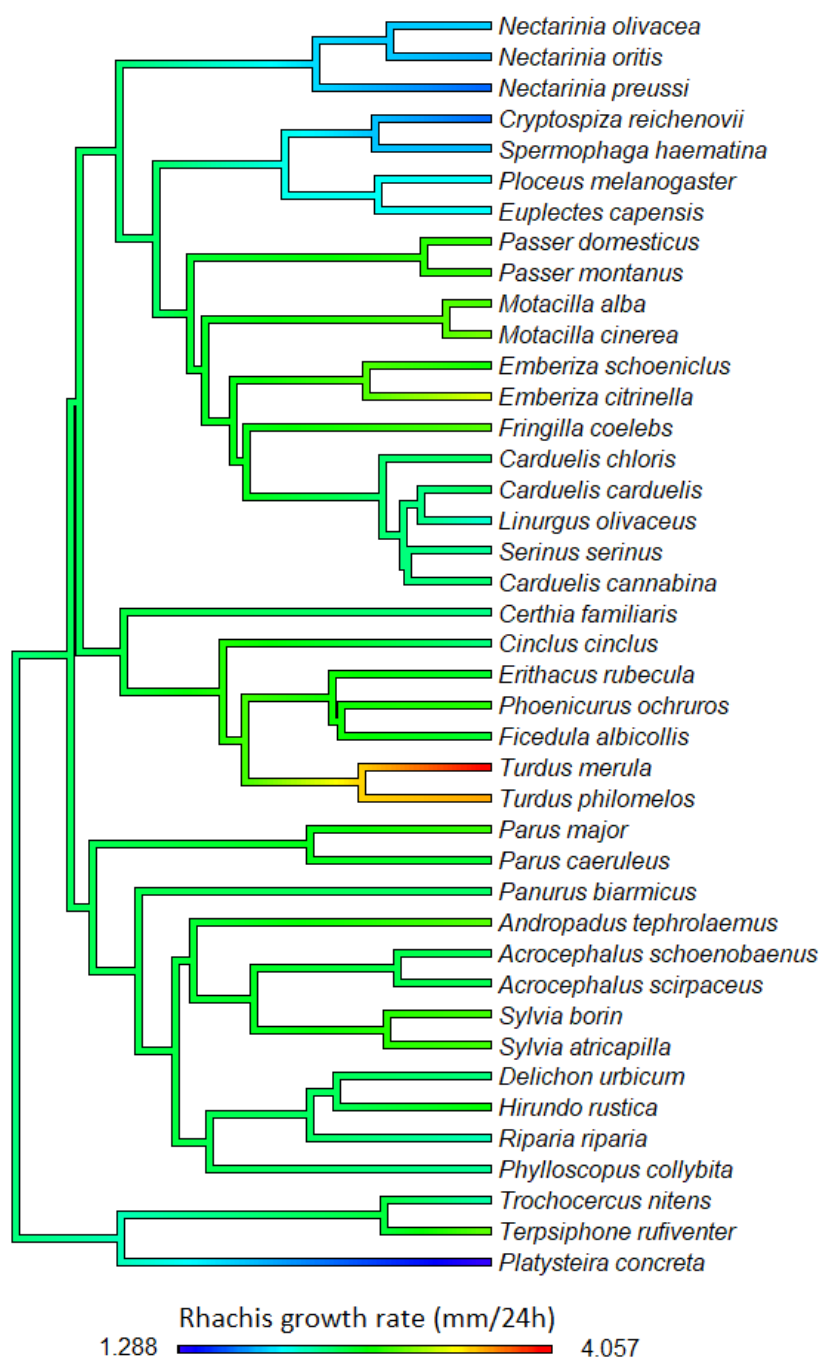
Proměnná	df	F	p
Latituda	2	4,993	0,021
Tělesná hmotnost_{log}	1	29,397	<0,001

Ze všech 41 studovaných druhů pěvců měl nejdelší rhachis ocasního pera kos obecný (*Turus merula*; 98,7 mm). Z tropických druhů měl nejdelší rhachis ocasního pera bulbul horský (*Andropadus tephrolaemus*; 75,2 mm). Celkově nejkratší rhachis měl leskňáček žlutobřichý (*Platysteira concreta*; 23,8 mm), z temperátních zástupců pak budníček menší (*Phylloscopus collybita*; 45,9 mm) (Obr. 17).



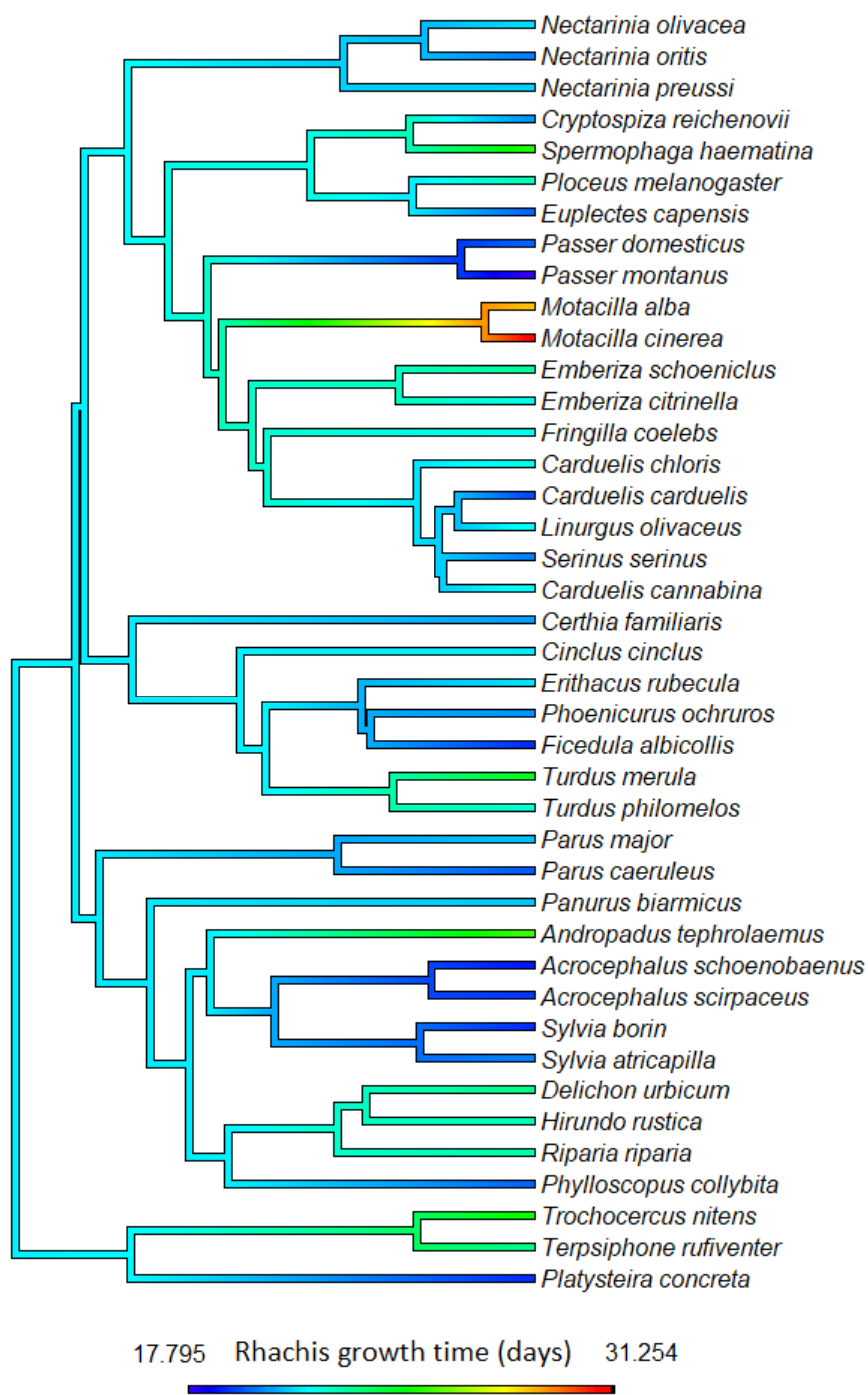
Obrázek 17. Fylogenetický strom znázorňující průměrné délky rhachis na druh. Teplejší barva značí delší rhachis.

Ze všech 41 studovaných druhů pěvců byla celkově největší růstová rychlost rhachis zjištěna u kosa obecného (*Turdus merula*; 4,1 mm/den), z tropických zástupců u lejskovce rudobřichého (*Terpsiphone rufiventer*; 3 mm/den). Nejmenší růstovou rychlost měl lesknáček žlutobřichý (*Platysteira concreta*; 1,3 mm/den) a z temperátních zástupců břehule říční (*Riparia riparia*; 2,3 mm/den) (Obr. 18).



Obrázek 18. Fylogenetický strom znázorňující průměrné růstové rychlosti rhachis na druh. Teplejší barva značí vyšší růstové rychlosti.

Ze všech 41 studovaných druhů pěvců byla celkově nejdelší doba růstu rhachis zjištěna u konipasa horského (*Motacilla cinerea*; 31 dní a 6 hodin), z tropických zástupců u bulbula horského (*Andropadus tephrolaemus*; 25 dní a 14 hodin). Nejkratší dobu růstu rhachis vykazoval vrabec polní (*Passer montanus*; 17 dní a 19 hodin) a z tropických zástupců leskňáček žlutobřichý (*Platysteira concreta*; 18 dní a 23 hodin) (Obr. 19).



Obrázek 19. Fylogenetický strom znázorňující průměrné doby růstu rhachis na druh. Teplejší barva značí delší dobu růstu.

4.1.3. Vliv latitudy a délky rhachis na růstovou rychlost rhachis

V dalším modelu byl za použití stejného fylogenetického stromu testován vliv latitudy na růstovou rychlost rhachis při kontrole na délku rhachis a logaritmovanou tělesnou hmotnost. Počáteční plný model (Tab. 3) byl zjednodušován pomocí příkazu *drop1* a byl tak nalezen minimální adekvátní model obsahující latitudu a délku rhachis. Odstranění délky rhachis v tomto modelu vedlo ke zhoršení modelu ($F=30,537$, $df=2$, $p<0,001$). Růstová rychlost rhachis ocasního pera prokazatelně závisí na latitudě. Ocasní pera rostou tropickým druhům v průměru pomaleji v porovnání s temperátními druhy. Tyto výsledky značí, že temperátní dálkoví migranti volí stejnou strategii růstu per jako temperátní rezidenti a migranti na krátké vzdálenosti. Srovnání relativních rychlostí růstu rhachis ocasních per tropických ptáků odchycených v Kamerunu a temperátních ptáků odchycených na území České republiky zobrazuje Obr. 20.

Tabulka 3. Počáteční plný model pro závislosti vybraných proměnných, kde závislá proměnná byla růstová rychlost rhachis (mm/den).

Proměnná	Sklon	SE	t	p
(Intercept) Dálkoví migranti	1,497	0,480	3,119	0.007
Temperátní migranti + rezidenti	0,106	0,217	0,488	0.633
Tropičtí rezidenti	-0,903	0,274	-3,298	0.005
Tělesná hmotnost_{log}	0,120	0,187	0,641	0.531
Délka rhachis	0,018	0,007	2.514	0.024

Tabulka 3a. Minimální adekvátní model vytvořený z počátečního plného modelu (Tab. 3).

Proměnná	df	F	p
Latituda	2	27,161	<0,001
Délka rhachis	1	13,808	0,002



Obrázek 20. Fylogenetický strom zobrazující reziduály vytvořené z fylogenetické regrese, kde závislá proměnná je přírůstek rhachis ocasního pera za 24 hodin (tj. růstová rychlost) a vysvětlující proměnná je délka rhachis. Teplejší barva větví znázorňuje vyšší relativní růstové rychlosti. Tropické druhy jsou zvýrazněny červeně.

4.1.4. Vliv latitudy na hmotnost pera

V dalším modelu byl za použití stejného původního fylogenetického stromu testován vliv latitudy na celkovou hmotnost pera při kontrole na délku rhachis, logaritmovanou tělesnou hmotnost a rychlost růstu. Počáteční plný model (Tab. 4) byl zjednodušován pomocí příkazu *drop1* a byl tak nalezen minimální adekvátní model obsahující hmotnost těla a délku rhachis. Odstranění délky rhachis z modelu vedlo ke zhoršení modelu ($F=97,926$, $df=1$, $p<0,001$). Větší ptáci a ptáci s delším rhachis mají hmotnější pera, nicméně při kontrole na všechny proměnné nebyl prokázán vliv latitudy na hmotnost pera.

Tabulka 4. Počáteční plný model pro závislosti vybraných proměnných, kde závislá proměnná byla celková hmotnost pera.

Proměnná	Sklon	SE	T	p
(Intercept) Dálkoví migranti	-25,135	3,433	-7,322	< 0.001
Temperátní migranti + rezidenti	-0,256	1,231	-0,208	0.838
Tropičtí rezidenti	1,226	1,731	0,708	0,490
Tělesná hmotnost_{log}	5,720	1,109	5,160	< 0.001
Délka rhachis	0,168	0,067	2,491	0,027
Růstová rychlost	3,359	2,251	1,492	0,159

Tabulka 4a. Minimální adekvátní model vytvořený z počátečního plného modelu (Tab. 4).

Proměnná	df	F	p
Tělesná hmotnost_{log}	1	39,430	<0,001
Délka rhachis	1	38,725	<0,001

4.2. Analýza hladin hormonů

Pomocí HPLC/MS byly získány koncentrace hormonů kortikosteronu a testosteronu z pravého a levého ocasního pera 5 druhů pěvců (rákosník obecný, *Acrocephalus scirpaceus*; zvonek zelený, *Chloris chloris*; strnad rákosní, *Schoenichus schoenichus*; slavík modráček, *Luscinia svecica* a sýkořice vousatá, *Panurus biarmicus*). Celkový dataset obsahoval informace o 50 ocasních perech (25 z pravé a 25 z levé strany ocasu) při počtu 5 samců/druh. Všechny druhy hnízdí v temperátu a s výjimkou rákosníka obecného zde také pelichají a zimují. Rákosník obecný je dálkový migrant a kompletně pelichá na zimovišti v Africe. Výše uvedené výsledky ptilochronologických analýz ukázaly, že hormonální vyladění tohoto druhu by v době pelichání mělo odpovídat koncentracím hormonů temperátních ptáků. Analýza je však limitovaná malou velikostí vzorku, a proto tuto hypotézu nebylo možno otestovat.

4.2.1. Opakovatelnosti v měřeních levých a pravých per

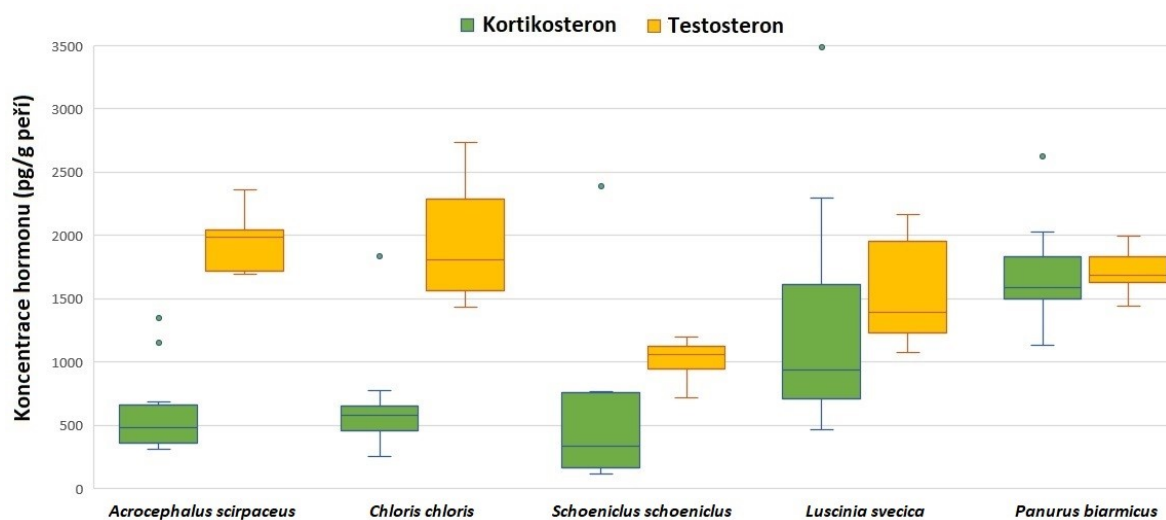
Opakovatelnosti v měřeních pro levé a pravé pero samců všech 10 druhů byly testovány v programu R pomocí balíčku *rptR*. Výsledky všech jednotlivých měření zobrazuje tabulka (Tab. 5). Z výsledků vyplývá, že opakovatelnosti měření všech proměnných byly signifikantní.

Tabulka 5. Opakovatelnosti v měřených proměnných mezi levým a pravým perem samců. CORT = kortikosteron; TEST = testosteron; CI = konfidenční interval 95 %.

Proměnná	r	SE	CI	p
CORT	0,751	0,096	0,513-0,878	<0,001
TEST	0,722	0,102	0,473-0,868	<0,001
Hmotnost	0,998	0,001	0,995-0,999	<0,001
Růstová rychlost	0,961	0,018	0,914-0,982	<0,001

4.2.2. Koncentrace hormonů v perech

Získané koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 113,567 do 3487,677 pg/1 g peří u kortikosteronu a od 719,814 do 2734,590 pg/1 g peří u testosteronu (Graf 1).



Graf 1. Koncentrace kortikosteronu a testosteronu v ocasních perech samců sledovaných druhů pěvců získané technikou HPLC/MS.

4.2.2.1. Mezidruhové rozdíly v koncentracích hormonů

Nejvyšší koncentrace kortikosteronu byly naměřeny v peří slavíka modráčka (*Luscinia svecica*; 3487,677 pg/g), nejnižší u strnada rákosního (*Schoeniclus schoeniclus*; 113,567 pg/g). Celkový průměrný variační koeficient činil 31,6 % (Tab. 6). Testosteron byl v nejvyšších hodnotách zjištěn u zvonka zeleného (*Chloris chloris*; 2734,590 pg/g), v nejnižších hodnotách opět u strnada rákosního (719,814 pg/g). Celkový průměrný variační koeficient činil 9,8 % (Tab. 7).

Tabulka 6. Popisná statistika koncentrací kortikosteronu analyzovaných z peří (pg/g). SD = směrodatná odchylka, Min = minimální hodnota koncentrace, Max = maximální hodnota koncentrace, CV = koeficient variance.

Druh	Průměr	SD	Min	Max	N	CV
<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	610,930	340,403	310,595	1345,765	10	34,03
<i>Chloris chloris</i>	659,463	417,301	249,853	1832,160	10	36,94
<i>Schoeniclus schoeniclus</i>	695,610	748,655	113,567	2384,544	10	41,42
<i>Luscinia svecica</i>	1338,478	894,290	467,444	3487,677	10	27,84
<i>Panurus biarmicus</i>	1701,446	385,634	1129,082	2623,889	10	17,57

Tabulka 7. Popisná statistika koncentrací testosteronu analyzovaných z peří (pg/g). SD = směrodatná odchylka, Min = minimální hodnota koncentrace, Max = maximální hodnota koncentrace, CV = koeficient variance.

Druh	Průměr	SD	Min	Max	N	CV
<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	1930,520	206,242	1690,809	2356,953	10	7,92
<i>Chloris chloris</i>	1949,044	462,397	1430,060	2734,590	10	14,39
<i>Schoeniclus schoeniclus</i>	1024,489	135,985	719,814	1199,933	10	9,33
<i>Luscinia svecica</i>	1563,667	404,689	1078,33	2164,679	10	10,69
<i>Panurus biarmicus</i>	1710,148	162,922	1438,871	1997,251	10	6,54

4.2.3. Mezidruhové rozdíly v růstových rychlostech

Nejvyšší růstové rychlosti byly zjištěny z růstových proužků v peří strnada rákosního (*Schoeniclus schoeniclus*; 3,553 mm/den), nejnižší u zvonka zeleného (*Chloris chloris*; 1,946 mm/den). Celkový průměrný variační koeficient činil 2,6 % (Tab. 8).

Tabulka 8. Popisná statistika růstových rychlostí ocasních per (mm/24 hodin). SD = směrodatná odchylka, Min = minimální hodnota koncentrace, Max = maximální hodnota koncentrace, CV = koeficient variance.

Druh	Průměr	SD	Min	Max	N	CV
<i>Acrocephalis scirpaceus</i>	2,416	0,202	2,040	2,657	10	2,5
<i>Chloris chloris</i>	2,222	0,230	1,946	2,691	10	4,6
<i>Schoeniclus schoeniclus</i>	2,853	0,455	2,244	3,553	10	1,3
<i>Luscinia svecica</i>	2,168	0,122	2,054	2,419	10	1,3
<i>Panurus biarmicus</i>	2,857	0,358	2,341	3,311	10	3,1

4.2.4. Mezidruhové rozdíly v délce rhachis

Nejdélší rhachis byly naměřeny u strnada rákosního (*Schoeniclus schoeniclus*; 67,6 mm), nejkratší u sýkořice vousaté (*Panurus biarmicus*; 43 mm). Celkový průměrný variační koeficient činil 1,4 % (Tab. 9).

Tabulka 9. Popisná statistika délek rhachis ocasních per (mm). SD = směrodatná odchylka, Min = minimální hodnota koncentrace, Max = maximální hodnota koncentrace, CV = koeficient variance.

Druh	Průměr	SD	Min	Max	N	CV
<i>Acrocephalis scirpaceus</i>	49,35	1,20	47,21	51,63	10	1,1
<i>Chloris chloris</i>	53,01	0,97	52,07	54,93	10	0,9
<i>Schoeniclus schoeniclus</i>	65,28	2,61	60,26	67,60	10	0,9
<i>Luscinia svecica</i>	50,67	1,31	48,54	52,58	10	1,4
<i>Panurus biarmicus</i>	47,72	1,93	43,97	51,5	10	2,1

4.2.5. Vztah mezi koncentracemi hormonů a růstovými rychlostmi per

Závislost koncentrací hormonů kortikosteronu a testosteronu na růstové rychlosti a délce rhachis byla testována v programu R pomocí balíčku *nlme*. Nejprve byl sestaven plný model s využitím všech výše zmíněných proměnných (Tab. 9). Pomocí funkce *drop1* byly odebírány proměnné, pro které nebyl prokázán signifikantní vliv na růstovou rychlost. Takto byl sestaven minimální adekvátní model obsahující délku rhachis, která podle předpokladů s růstovou rychlostí souvisí (Tab. 9a). U kortikosteronu ani u testosteronu se nepodařilo prokázat signifikantní vztah s rychlostí růstu pera ($p = 0,603$ pro kortikosteron a $p = 0,903$ pro testosteron).

Tabulka 9. Výsledky analýz závislosti růstové rychlosti per na zjišťovaných proměnných. CORT = koncentrace kortikosteronu; TEST = koncentrace testosteronu.

Proměnná	sklon	SE	t	p
Růstová rychlost _{log}	0,074	0,360	0,206	0,838
CORT	-0,001	<0,001	-0,528	0,603
Délka rhachis	0,014	0,006	2,362	0,027
TEST	0,001	<0,001	0,123	0,903

Tabulka 9a. Minimální adekvátní model vytvořený z počátečního plného modelu (Tab. 9).

Proměnná	df	t	p
Délka rhachis	24	2,404	0,024

5. Diskuze

Latitudinální gradient poskytuje vhodný modelový systém ke studiu vlivu role variability prostředí v evoluci životních strategií ptáků. S životními strategiemi souvisejí *pace-of-life* syndromy (POLS) vycházející z konceptů r- a K- strategií (Ricklefs & Wikelski 2002). V rámci měnící se zeměpisné šířky lze zaznamenat změny v jednotlivých znacích životních strategií, přičemž tyto znaky reflektují rychlost tempa života v dané oblasti. Tropické druhy ptáků žijí celkově pomaleji, což dokazují větší investice do budoucí reprodukce a odpovídající charakteristiky podporující tento styl života – menší snůška (Lack 1947), delší dožití, pomalejší metabolismus (Wiersma et al. 2007) a nižší hladiny testosteronu a kortikosteronu (Hau et al. 2010). V temperátních oblastech jsou favorizovány rychlé životní strategie charakterizované většími investicemi do současné reprodukce na úkor přežívání – početnější snůška, kratší dožití, rychlejší metabolismus a vyšší koncentrace testosteronu a kortikosteronu. Jak je patrné z výsledků, podél latitudinálního gradientu se mění také růstové rychlosti peří.

5.1. Ptilochronologická analýza

Přestože existuje mnoho prací zabývajících se studiem ptačího pera metodou ptilochronologie (např. Grubb 2006, Langston & Rohwer 1996, Stratford & Stouffer 2001), dosud žádná z nich nehodnotila rozdíly v rychlostech růstu peří v rámci latitudinálního gradientu. Výsledky této diplomové práce naznačily, že investice do růstu peří odpovídají rychlostem životních strategií favorizovaných na hnízdišti vybraných druhů pěvců temperátní České republiky a tropického Kamerunu. Ukázalo se, že ocasní pera dorůstají kamerunským druhům pomaleji než temperátním, a to i při kontrole na délku rhachis a tělesnou hmotnost. Temperátní dálkoví migranti zimující v tropické Africe zároveň vykazují stejné růstové rychlosti per jako temperátní migranti zimující severně od Sahary a temperátní nemigrující rezidenti. Tyto výsledky jsou v souladu s teoriemi životních strategií a latitudinálních trendů. Budoucí studie by se při podobných experimentech mohly zaměřit také na rozdíly v investicích do opeření v závislosti na lokalitě pelichání různých druhů. Tropičtí rezidenti, temperátní rezidenti a migranti na krátké vzdálenosti pelichají v podmínkách hnízdiště. Dálkoví migranti pelichají buď před migrací (na hnízdišti) nebo po

migraci (na zimovišti). Ze všech druhů studovaných v této práci byl dálkový migrant pelichající před migrací zastoupen pouze lejskem bělokrkým, a proto nebylo srovnání peří v rámci uvedených kategorií možné. Nicméně, rhachis ocasního pera rostl lejskům bělokrkým průměrnou rychlostí 2,61 mm/den, což je téměř stejná doba, jaká byla zjištěna u některých z ostatních dálkových migrantů (pěnice slavíková (*Sylvia borin*) 2,89 mm/den; rákosník obecný (*Acrocephalus scirpaceus*) 2,53 mm/den). Pro přesnější pochopení strategií růstových rychlostí peří dálkových migrantů by však bylo vhodné provést detailnější srovnání většího počtu druhů.

Je možné, že vysoké růstové rychlosti per dálkových migrantů odrážejí požadavky související se samotnou migrací. Extrémním příkladem našich pěvců migrujících do subsaharské Afriky může být doposud nejvzdálenější nález vlaštovky obecné (*Hirundo rustica*) okroužkované na území České republiky (Tetín, okres Beroun), který byl hlášen z 8 503 km vzdáleného města Lydenburg v Jihoafrické republice (Cepák et al. 2008). Z uvedeného příkladu je zřejmé, že migrace znamená značné energetické výdaje. Potřeba včasného návratu na hnízdiště může u ptáků opakovaně zdolávajících tisíce kilometrů selektovat rychlejší dorůstání peří, aby bylo zajištěno co nejefektivnější využití rozmnožovací sezóny. To může vést k selekci na rychlé dorůstání per v Africe pelichajících migrantů ve srovnání s místními africkými rezidenty. U dálkových migrantů byly dříve zjištěny nižší rychlosti bazálního metabolismu oproti temperátním rezidentům (Wiersma et al. 2007). Ve výsledcích této diplomové práce se pomalejší BMR na rychlosti růstu per neprojevaly. Wiersma et al. (2007) měli k dispozici více než trojnásobně početnější databázi ptáků, takže je možné, že na větším vzorku by uvedené skutečnosti byly patrné.

Ptilochronologickou analýzou bylo dále zjištěno, že délka plně dorostlých ocasních per se vzhledem k velikosti těla u tropických a temperátních ptáků neliší. Jinými slovy, u tropických ptáků je selektována delší doba růstu ocasu při stejných rozměrech pera. Tento výsledek potvrdil již dříve zjištěnou skutečnost, že v tropech je výhodný pomalejší, ale zato stabilnější celkový růst vedoucí k lepší pohybové výkonnosti a mobilitě při útěku před predátory (Perez & Munch 2014). Delší doba růstu pera může způsobovat nevýhody spojené s omezenými možnostmi letu a manévrování. Stav jednotlivých typů per je kruciólní zejména při střetnutí s predátorem (Witter et al. 1994), kdy aktivní let závisí na dlouhých perech křídla (tzn. na ručních a loketních letkách) a ocasní pera umožňují zdvih (Pennycuick 2008, podle Møller & Nielsen 2017). Pelichání tedy probíhá na úkor letových schopností

(Bensch & Grahm 1993), nicméně Senar et al. (2002) prokázali, že sýkory koňadry strategicky upravují tělesnou váhu jako odpověď na sníženou plochu křídla, čímž optimalizují poměr těchto dvou proměnných. Rychlý vývoj pera znamená jeho zhoršenou kvalitu (Vágási et al. 2012) a větší tendence k opotřebení (Møller & Nielsen 2017). Martin (2015) ukázal, že tropickým ptákům rostou křídla rychleji, v důsledku čehož jejich mláďata opouštějí hnízdo s relativně delšími křídly, než je tomu v temperátní zóně. Tento jev je v souladu s většími rodičovskými investicemi do menšího počtu potomků, nicméně zjišťovány byly celkové rozměry křídel, nikoliv ptilochronologické údaje konkrétních letek. Je možné, že přestože křídla rostla celkově rychleji, jednotlivá pera rostla pomaleji, a tedy kvalitněji. V návaznosti na studii Martin (2015) by bylo zajímavé provést ptilochronologickou analýzu jednotlivých dlouhých per křídel – letek. Srovnání těchto atributů by mohlo přinést ještě detailnější znalosti o investicích do opeření a s nimi souvisejících antipredačních strategií.

V této práci nebyly při ošetření na délku rhachis nalezeny rozdíly v relativních hmotnostech (indikujících kvalitu) ocasních per ptáků z odlišných regionů. Kvalita pera bývá obecně kvantifikována kombinací několika parametrů, jako je například hmotnost, délka a šířka rhachis a počet kazových proužků (Vágási et al. 2012). Databáze per analyzovaných v této diplomové práci nezahrnovala pera s kazovými proužky a při měřeních byly z výše uvedených parametrů zjišťovány pouze hmotnosti a délky jednotlivých per. Kazové proužky nabývají různých rozměrů, od průsvitných segmentů způsobených vadným ukládáním melaninu (Ross et al. 2015) po celé mezery s chybějícími větvemi (Jovani & Rohwer 2016), a jejich přítomnost tak snižuje hmotnost pera. Je proto možné, že nenalezení rozdílu v hmotnostech per tropických a temperátních druhů bylo způsobeno nezahrnutím těchto ukazatelů kvality pera do analýzy. Budoucí výzkum zaměřený na problematiku hmotnosti a kvality per by tedy určitě měl přítomnost kazových proužků zohlednit. Výsledky jsou zajímavé také v souvislosti s dřívějším zjištěním, že tropičtí ptáci mají na těle méně perí a jeho celková hmotnost je tak lehčí (Wiersma et al. 2012). Práce se týkala veškerého opeření na celém povrchu těla. Porovnáním hmotností mikrostruktur pera v rámci tropických a temperátních ptáků se však doposud žádná studie nezabývala.

Zvolená metoda komparativní ptilochronologie se pro účely této práce ukázala být vhodným nástrojem. Na ocasních perech jsou růstové proužky dobře viditelné, a bylo tak možno efektivně zpracovat všech 934 per (884 v ptilochronologické databázi a 50 v databázi pro analýzu hormonů), což by při jiné metodě bylo značně časově náročné. Ptilochronologie

je využívána téměř 30 let (Grubb 1989) a první záznamy o růstových proužcích jsou staré přes 110 let (Mascha 1905). Přesto tato metoda přináší stále nové výzvy. Růstové proužky jsou nejlépe viditelné na obrysových perech, zejména na letkách a rýdovacích perech (Wood 1950). To však platí převážně pro tmavá, jednobarevná pera; s vyšší variabilitou pigmentace (na perech strakatých) se rozpoznatelnost růstových proužků snižuje či definitivně mizí. Ptilochronologické analýzy jsou tedy částečně omezené pigmentací a zbarvením jednotlivých typů per vybraných ptačích druhů. Navíc je kvůli rozdílným rozlišovacím schopnostem jednotlivých pozorovatelů vhodné provádět analýzu růstových proužků v omezeném počtu lidí, jejichž měření jsou vzájemně opakovatelná. Jednu z možností rozvoje ptilochronologické metody by mohla představovat metodika umožňující rozpoznatelnost růstových proužků tam, kde nejsou viditelné lidským okem.

5.2. Analýza hormonů

Se vzdáleností od rovníku se u ptáků mění koncentrace steroidních hormonů kortikosteronu a testosteronu. V tropech dosahují bazální hladiny obou hormonů nižších hodnot (Hau et al. 2010). Analýza kortikosteronu z opeření je využívána 10 let (Bortolotti et al. 2008) a díky sledování dlouhodobých koncentrací se ukazuje jako spolehlivá a funkční metoda poskytující unikátní vhled do života ptáků. Testosteron byl oproti tomu z opeření analyzován jen v jedné práci (Koren et al. 2012a). Oproti analýze z krve a jiných tělesných tekutin či výměšků je analýza hormonů z opeření nejméně zatížena možnými chybami ovlivňujícími přesnost (Möstl et al. 2005) a představuje vhodnou alternativu k objemem limitovaným odběrům krve volně žijících ptáků (Koren et al. 2012b). Z důvodu mírně odlišných postupů v různých laboratořích by bylo vhodné provést srovnávací analýzu, která by umožnila objektivně porovnat jednotlivé matrice hormonů mezi sebou a přispěla k bližšímu porozumění vlivu vybraných hormonů v organismu.

V této práci bylo k analýze kortikosteronu a testosteronu využito ocasních per samců českých zástupců pěvců technikou HPLC/MS. Metodiku publikovanou v práci Koren et al. (2012a) se z neznámého důvodu v našich laboratorních podmínkách nepodařilo zopakovat. Z tohoto důvodu byla použita modifikovaná metodika, jejíž vhodnost potvrzuje skutečnost, že zatímco ve výše uvedené práci autoři detekovali kortikosteron v pouhých 33 % vzorků,

naše analýza detekovala oba hormony ve všech vzorcích. Zjišťování opakovatelnosti v měření koncentrací hormonů v levých a pravých perech přineslo pozitivní výsledky. Opakovatelnost naší metodiky pro kortikosteron činila 75,1 % a pro testosteron 72,2 %, což je sice méně, než bylo na základě nově zavedené metody očekáváno (Adámková et al. in prep; 79 % pro kortikosteron a 91 % pro testosteron), nicméně je třeba brát v úvahu, že na celkové opakovatelnosti se podílí použitá metoda i rozdíly mezi pery. Průměrný CV dosahoval 31,6 % u kortikosteronu a 9,8 % u testosteronu, a zároveň byly analyzovány velmi malé navážky peří. Intra-assay (opakovaná měření vzorku v jednom běhu analýzy) pro kortikosteron mohou dosahovat opakovatelnosti 85 % (Hůrak et al. 2013; technika RIA). V Hůrak et al. (2013) byl analyzován kortikosteron z peří zvonka zeleného při CV 23,6 %, nicméně pro stejný druh jsem v mojí práci naměřila CV 36,96 %. Inter-assay (opakovaná měření vzorku mezi několika běhy analýzy) CV dosahuje až 40 % (Lattin et al. 2011; RIA). Vzhledem k malým navážkám a rozdílným CV jde o hodnoty srovnatelné s jinými pracemi. Je pravděpodobné, že při použití vyšších navážek (které je možno odebrat např. v podobě drobného opeření) by opakovatelnost byla vyšší, jelikož by nedošlo ke zkreslení analýzy artefaktem malého vzorku, ovšem z drobného peří je téměř nemožné „vyčíst“ růstové proužky, a tedy provést ptilochronologickou analýzu. CV pro testosteron činil 9,8 %, což je lepší výsledek oproti měřením z krevní plazmy autorů Hau et al. (2010), kde CV dosahoval až 16 %. Při analýzách hormonů z peří je třeba zohlednit, že krev sice v perech v době jejich růstu cirkuluje stejným způsobem, ale na ukládání hormonů do keratinové struktury pera mají vliv různé faktory, jako je například obsah melaninových pigmentů (Jenni-Eiermann et al. 2015). Depozice hormonů do opeření je dosud málo prozkoumanou oblastí a nové studie v této oblasti jsou tak nezbytné.

Měření hmotnosti per byla opakovatelná z 99,8 %, o něco méně pak růstová rychlost 96,1 %. CV pro délky rhachis činil 1,4 %. Určité procento může být dáno chybami v měřeních, obecně je ale jistá variabilita ve fluktuaci asymetrie opeření považována za přirozený jev (Grubb 2006). Asymetrie v opeření může ovlivňovat fitness jedince. U vlaštovky obecné (*Hirundo rustica*) byl prokázán vliv symetrie ocasních per na sexuální výběr partnera, kde byli preferováni samci s více symetrickými pery (Møller 1993). Při zjišťování symetrie mezi ptilochronologickými údaji z pravé a levé části těla u divoce žijících ptáků může být potenciálním úskalím neznalost faktorů, které by mohly ovlivnit růst pera (například setkání s predátorem nebo období nedostatku potravy vedoucí ke ztrátě pera a jeho následnému dorůstání za odlišných podmínek vůči stejnému peru z druhé strany křídla

či ocasu) (Swaddle & Witter 1994, Harris 2015). Skutečnost, že v této práci byly ptilochronologické údaje z levých a pravých ocasních per téměř symetrické, naznačuje, že tato pera pravděpodobně nebyla podobnými vlivy zatížena v nadměrné míře.

Podle očekávání byly u obou hormonů zjištěny mezidruhovvé rozdíly v jejich koncentracích. Mezi testovanými druhy byl mimo jiné rákosník obecný, temperátní dálkový migrant pelichající na zimovišti v subsaharské Africe (Cepák et al. 2008). Analýza hormonů provedená v této diplomové práci byla limitovaná velikostí vzorku, nicméně je možné, že podrobnější analýza by u tohoto druhu odhalila souvislosti mezi hormonálním vyladěním a latitudou, z důvodu obecně nižších hladin kortikosteronu a testosteronu u tropických ptáků v porovnání s temperátními (Hau et al. 2010). Mezidruhovvá variabilita v hladinách steroidních hormonů měřených z krevní plazmy se může pohybovat v rozsahu až dvou řádů (0,7–57 ng/ml pro kortikosteron a 0,3–13 ng/ml pro testosteron (Garamszegi et al. 2008, Bókony et al. 2009)). V této práci se hladiny kortikosteronu pohybovaly mezi 113,6–3487,7 pg/g a hladiny testosteronu mezi 719,8–2734,6 pg/g. Rozdíly v rámci jednoho řádu jsou tedy standardní.

Dále byla testována závislost koncentrací kortikosteronu a testosteronu na ptilochronologických znacích per. Ani u jednoho z hormonů nebyl zjištěn prokazatelný vztah s růstovou rychlostí pera. Dosavadní práce ukázaly, že kortikosteron významně negativně ovlivňuje růstové rychlosti. Ve studii Romero et al. (2005) byl analyzován kortikosteron z krevní plazmy po implantaci kortikosteronové kapsle a byl zjištěn negativní vliv na růst peří špačka obecného (*Sturnus vulgaris*). Je ovšem možné, že vzhledem k průběžným měřením per v uvedené práci došlo ke zkreslení výsledků z důvodu časté manipulace, která může koncentrace kortikosteronu zvýšit. Použití ptilochronologických analýz by bylo jistě výhodnější. Stejný negativní efekt kortikosteronu na peří prokázali také DesRochers et al. (2009). Další studie zjistily interakci kortikosteronu s testosteronem (Roberts et al. 2007). Podle hypotézy imunokompetenčního handicapu nemá testosteron sám o sobě imunosupresivní účinky, ale způsobuje je nepřímo vyšší produkcí kortikosteronu (Roberts et al. 2007). Kortikosteron pak imunitu potlačovat může (Sapolsky et al. 2000). Na základě těchto skutečností byly u per s vyššími hladinami hormonů očekávány nižší hmotnosti a růstové rychlosti. Nenalezení vztahu mezi hormony a ptilochronologickými znaky bylo pravděpodobně opět způsobeno limitovanou velikostí vzorku. Hlavním cílem druhé části této diplomové práce nicméně bylo zejména představení metodiky analýzy

hormonů z peří technikou HPLC/MS a výhod plynoucích z kombinace této techniky s nově zavedenou, dosud nepublikovanou metodou, která dosahuje vysokých opakovatelností a oproti dříve používané metodě umožňuje analýzu kortikosteronu a testosteronu až ze 100 % vzorků peří.

6. Závěr

Tato diplomová práce byla zaměřena na zjišťování rozdílů v růstových rychlostech opeření pěvců podél latitudinálního gradientu. Metodou komparativní ptilochronologie byly porovnány rychlosti růstu ocasních per vybraných druhů ptáků temperátní Evropy a tropického Kamerunu. V rámci temperátních druhů byly zohledněny různé typy migrace a s nimi související lokality, kde dané druhy obměňují peří. Z ocasních per zástupců pěvců obývajících temperátní Evropu byly technikou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí analyzovány hormony kortikosteron a testosteron, a to pomocí dosud nepublikované metody, která umožňuje detekci velmi nízkých koncentrací látek. Následně bylo ověřováno, zda jsou hladiny hormonů a údaje o růstových rychlostech z těchto per opakovatelné při srovnání per z pravé a levé strany ocasu daných jedinců, a zda tyto znaky vzájemně korelují. Závěrečná zjištění lze shrnout do následujících bodů:

1. Nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v růstových rychlostech per mezi pohlavími.
2. Byl potvrzen signifikantní vliv klimatu hnízdiště na růstové rychlosti per. Oproti ptákům z temperátní zóny vykazovali kamerunští zástupci pomalejší rychlost růstu rhachis.
3. Při ošetření dat na fylogenezi a velikost těla nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi délkami rhachis a různými typy migrace. Temperátní rezidenti, migranti na krátké vzdálenosti, dálkoví migranti a tropičtí (nemigrující) ptáci tedy mají vzhledem k velikosti těla v průměru stejně dlouhá ocasní pera. Současně byla potvrzena pozitivní korelace mezi délkou rhachis a velikostí těla.
4. Při ošetření dat na fylogenezi, velikost těla, délku pera a růstovou rychlost nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v hmotnostech per s měnící se zeměpisnou šířkou.
5. Byl zjištěn vliv zeměpisné šířky na růstovou rychlost ocasního pera, v tropech byly zjištěny nižší rychlosti růstu ocasních per. Růstové rychlosti dálkových migrantů se prokazatelně liší od tropických ptáků, ne však od temperátních rezidentů a migrantů na krátké vzdálenosti. Toto zjištění značí, že přestože dálkoví migranti pelichají v tropické Africe, je pro ně strategie růstu per shodná s temperátními rezidenty a migranty na krátké vzdálenosti.

6. Analýzou testosteronu a kortikosteronu v ocasních perech 5 druhů pěvců temperátní zóny byly zjištěny značné mezidruhové rozdíly v koncentracích, a to i o jeden řád.
7. Opakovatelnosti pro měření hladiny testosteronu i kortikosteronu levých a pravých per jedinců byly prokazatelné, stejně tak jako hmotnosti a růstové rychlosti těchto per.
8. Nebyly nalezeny souvislosti mezi koncentracemi hormonů a růstovými rychlostmi jednotlivých per. To může být důsledkem limitované velikosti vzorku.

Tato diplomová práce přinesla nové poznatky o investicích do opeření podél latitudinálního gradientu. Ukázalo se, že růstové rychlosti ocasních per pěvců mohou vykazovat latitudinální trend. Za celkem zásadní lze považovat zjištění, že tropickým ptákům rostou ocasní pera v průměru pomaleji oproti ptákům mírného pásu, přičemž absolutní délka těchto per je relativně k tělesné hmotnosti stejná. V temperátu tedy ocasní pera dorůstají kratší dobu. Zajímavým výsledkem je také zjištění shodné strategie růstu peří u temperátních druhů pelichajících severně od Sahary a temperátních subsaharských migrantů pelichajících v tropech. Zdá se, že investice do růstu nového pera reflektují podmínky prostředí a celkové vyladění organismu (včetně metabolismu) favorizované na hnízdišti, spíše než v prostředí, kde pero vyrůstá. Tyto výsledky naznačují, že růstové rychlosti per mohou být součástí *pace-of-life* syndromů. Analýza testosteronu a kortikosteronu z peří přinesla pozitivní výsledky v podobě vysoké opakovatelnosti měření za použití nové, dosud nepublikované metody. Absence vztahu mezi hormonálním vyladěním a ptilochronologickými údaji je v této práci pravděpodobně způsobena limitovanou velikostí vzorku a malými navážkami, nicméně prověření těchto souvislostí se nabízí pro budoucí výzkum. Zároveň by bylo vhodné provést obdobné analýzy u jiného typu peří, které je zároveň vhodné pro ptilochronologické analýzy, jako jsou například dlouhá pera křídel.

Zdroje

Obrázky

Obrázek 3: [online], [cit. 8. 2. 2018], dostupné z: https://www.rspb.org.uk/globalassets/images/birds-and-wildlife/bird-species-illustrations/reed-bunting_male_1200x675.jpg?preset=landscape_mobile a https://www.hbw.com/sites/default/files/styles/large_a/public/figures/hbw01/jpg/01_50_144_Oxyura%20maccoa_m.jpg

Obrázek 4: [online], [cit. 16. 2. 2018], dostupné z: <http://daxushequ.com/birds-nest/59934844.html> a <https://www.istockphoto.com/photo/blue-eggs-in-a-birds-nest-on-white-background-gm134135564-7541860>

Obrázek 9:

[online], [cit. 3. 3. 2017], dostupné z:

https://classconnection.s3.amazonaws.com/623/flashcards/4745623/png/feather_diagram-144051C4BBF28589570.png

[online], [cit. 16. 5. 2018], dostupné z: <http://lansingwbu.blogspot.cz/2011/09/types-of-bird-feathers.html>

Obrázek 13: [online], [cit. 8. 2. 2018], dostupné z:

<http://bonesandnature.blogspot.com/2015/01/how-feathers-grow.html>

Obrázek 14: [online], [cit. 30.7. 2018], dostupné z:

<https://cs.wikipedia.org/wiki/Kortikosteroidy#/media/File:Corticosterone.svg>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Testosterone#/media/File:Testosteron.svg>

Literatura

Adámková, M., Bílková, Z., Tomášek, O., Šimek, Z. & Albrecht, T. (2018): A novel method for simultaneous quantification of feather testosterone and corticosterone by the LC-ESI-MS/MS system (in preparation).

Arcese, P. & Smith, J. (1988). Effects of Population-Density and Supplemental Food on Reproduction in Song Sparrows. *J. Anim. Ecol.* 57: 119–136.

Adkins-Regan, E. (2005). Hormones and animal social behavior. Princeton University Press.

Aharon-Rotman, Y., Buchanan, K.L., Klaassen, M., Buttemer, W.A. (2017). An experimental examination of interindividual variation in feather corticosterone content in the House Sparrow, *Passer domesticus* in southeast Australia. *Gen Comp Endocrinol* 244:93–100.

Ashmole, N. P. (1967). The regulation of numbers of tropical oceanic birds. *Ibis* 103: 458–473.

Bartholomew, G. A. (1982). Energy metabolism. In *Animal Physiology* (ed. M. S. Gordon), pp. 44–64. New York: Macmillan.

Bensch, S & Grahm, M. (1993). A new method for estimating individual speed of molt. *Condor* 95:305–315.

Bókony, V., Garamszegi, L. Z., Hirschenhauser, K. & Liker, A. (2008). Testosterone and melanin-based black plumage coloration: a comparative study. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62: 1229–1238.

Bock, J. L. (2000). The new era of automated immunoassay. *American journal of clinical pathology*, 113: 628–646.

Bortolotti, G. R., Marchant, T. A., Blas, J. & German, T. (2008). Corticosterone in feathers is a long term, integrated measure of avian stress physiology. *Functional Ecology* 22: 494–500.

Bortolotti, G. R., Marchant, T., Blas, J. & Cabezas, S. (2009). Tracking stress: localisation, deposition and stability of corticosterone in feathers. *Journal of Experimental Biology* 212: 1477–1482.

- Boyanton, B.L. & Blick, K.E.** (2002). Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clinical Chemistry* 48: 2242–2247.
- Brodin, A.** (1993). Radio-Ptilochronology: Tracing Radioactively Labelled Food in Feathers. *Ornis Scandinavica* 24: 167–173.
- Bushuev, A., Tolstenkov, O., Zubkova, E., Solovyeva, E & Kerimov, A.** (2018). Basal metabolic rate in free-living tropical birds: the influence of phylogenetic, behavioral, and ecological factors. *Current Zoology* 64: 33–43.
- Case, T. J.** (1978). On the evolution and adaptive significance of postnatal growth rates in the terrestrial vertebrates, Q. *Rev. Biol.* 53:243–282.
- Cepák, J., Formánek, J., Horák, D., Jelfínek, M., Klvaňa, P., Schröpfer, L., Škopek, J. & Zárybnický, J.** (2008). Atlas migrace ptáků České a Slovenské republiky. Praha: Aventinum. ISBN: 978-80-86858-87-6.
- Clarke, J.** (2013). Feathers before flight. *Science* 340: 690–692.
- Class, A. M. & Moore, I. T.** (2013). Effects of food supplementation on a tropical bird. *Oecologia* 173: 355–362.
- Cody, M. L.** (1966). A general theory of clutch size. *Evolution* 20: 174–184.
- Cook, N. J.** (2012). Review: minimally invasive sampling media and the measurement of corticosteroids as biomarkers of stress in animals. *Canadian Journal of Animal Science* 92: 227–259.
- Černý, H.** (2005). Anatomie domácích ptáků. Brno: Metoda, ISBN 80-239-4966-7.
- De Baere, S., Larsen, T. R., Devreese, M., De Backer, P., De Neve, L., Fairhurst, G. & Croubels, S.** (2014). Use of LC–MS–MS as an alternative to currently available immunoassay methods to quantitate corticosterone in egg yolk and albumen. *Analytical and bioanalytical chemistry* 407: 4351–4362.
- DesRochers, D. W., Reed, J. M., Awerman, J., Kluge, J. A., Wilkinson, J., Van Griethuijsen, L. I., Aman, I. & Romero, L. M.** (2009). Exogenous and endogenous corticosterone alter feather quality. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 152: 46–52.
- Dmitriew, C. M.** (2011). The evolution of growth trajectories: what limits growth rate? *Biol. Rev.* 86: 97–116.
- Fair, J., E. Paul & Eds, J. J.** (2010). Guidelines to the Use of Wild Birds in Research. Washington, D.C.: Ornithological Council.
- Fairhurst, G.D., Frey, M.D., Reichert, J.F., Szelest, I., Kelly, D.M. & Bortolotti, G.R.** (2011). Does environmental enrichment reduce stress? An integrated measure of corticosterone from feathers provides a novel perspective. *PLoS One* 6:e17663.
- Fairhurst, G.D., Marchant, T.A., Soos, C., Machin, K.L., Clark, R.G.** (2013). Experimental relationships between levels of corticosterone in plasma and feathers in a free-living bird. *J Exp Biol* 216:4071–4081.
- Fanson, K. V., Németh, Z., Ramenofsky, M., Wingfield, J. C. & Buchanan, K. L.** (2017). Inter-laboratory variation in corticosterone measurement: Implications for comparative ecological and evolutionary studies. *Methods in Ecology and Evolution* 8: 12.
- Finkel, T. & Holbrook, N. J.** (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408: 239–247.
- Fogden, M. P. L.** (1972). The seasonality and population dynamics of equatorial forest birds in Sarawak. *Ibis* 114:307–343.
- Forbush, E. H.** (1929). Birds of Massachusetts and other New England States 3: 322. IN Wood, H. B. (1950). Growth bars in feathers. *Auk* 67: 486–491.
- Frankel, A. I., Cook, B., Graber, J. W. & Nalbandov, A. V.** (1967). Determination of Corticosterone in Plasma by Fluorometric Techniques 1. *Endocrinology* 80: 181–194.
- Gan, S. D. & Patel, K. R.** (2013). Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Investigative Dermatology* 133: 1–3.
- Gagamszegi, L. Z., Hirschenhauser, K., Bókony, V., Eens, M., Hurtrez-Bousses, S., Møller, A. P., Oliveira, R. F. & Wingfield, J. C.** (2008) Latitudinal distribution, migration, and testosterone levels in birds. *The American Naturalist* 172: 533–546.

- Gaud, J. & Atyeo, W.T.** (1996). Feather mites of the world (Acarina, Astigmata): the supraspecific taxa. *Ann. Zool. Wetenschappen* 277: 1–193.
- Ghalambor, C. K. & Martin, T. E.** (2001). Fecundity-survival trade-offs and parental risk-taking in birds. *Science* 292: 494–497.
- Gow, R., Thomson, S., Rieder, M., Van U., S. & Koren, G.** (2010). An assessment of cortisol analysis in hair and its clinical applications. *Forensic science international* 196: 32–37.
- Goymann, W., Moore, I.T., Scheuerlein, A., Hirschenhauser, K., Grafen, A. & Wingfield, J. C.** (2004). Testosterone in tropical birds: Effects of environmental and social factors. *Am. Nat.* 164: 327–334.
- Grubb, T. C.** (1989). Ptilochronology: Feather Growth Bars as Indicators of Nutritional Status. *The Auk* 106: 314–320.
- Grubb, T. C.** (1995). On induced anabolism, induced caching, and induced construction as unambiguous indices of nutritional condition. *Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology* 6:258–263.
- Grubb, T. C.** (2006). Ptilochronology: feather time and the biology of birds. Oxford University Press on Demand.
- Harris, Ch. M.** (2015). Corticosterone in feathers as a biomarker: biological relevance, considerations and cautions. *Electronic theses and dissertations*, 5293.
- Hau, M., Gill, S. A. & Goymann, W.** (2008). Tropical field endocrinology: Ecology and evolution of testosterone concentrations in male birds. *Gen. Comp. Endocrinol.* 157: 241–248.
- Hau, M., Ricklefs, R. E., Wikelski, M., Lee, K. A. & Brawn, J. D.** (2010). Corticosterone, testosterone and life-history strategies of birds. *Proceedings of the royal society* 277: 3203–3212.
- Hinds, D., Baudinette, R., Macmillen, R. & Halpern, E.** (1993). Maximum Metabolism and the Aerobic Factorial Scope of Endotherms. *J. Exp. Biol.* 182: 41–56.
- Hořák, D., Tószögyová, A. & Storch, D.** (2014). Relative food limitation drives geographical clutch size variation in South African passerines: a large-scale test of Ashmole's seasonality hypothesis. *Global Ecol. Biogeogr.* 24: 437–447.
- Hörak, P., Männiste, M., Meitern, R., Sild, E., Saks, L. & Sepp, T.** (2013). Dexamethasone inhibits corticosterone deposition in feathers of Greenfinches. *Gen Comp Endocrinol* 191:210–214.
- Jánský, L., & Novotný, I.** (1981). Fyziologie živočichů a člověka. Učebnice pro přírodovědecké fakulty. Avicenum.
- Jelínek, I.** (2008). Hmotnostní spektrometrie. IN: Štulík, K. & Zima, J. (EDS) 2008: Klinická a toxikologická analýza. VŠCHT Praha, vydáno ve spolupráci s Českou společností chemickou, pp. 140–146.
- Jenni-Eiermann, S., Helfenstein, F., Vallat, A., Glauser, G., & Jenni, L.** (2015). Corticosterone: effects on feather quality and deposition into feathers. *Methods in Ecology and Evolution* 6: 237–246.
- Jetz, W., Sekercioglu, C. H. & Boehning-Gaese, K.** (2008). The Worldwide Variation in Avian Clutch Size across Species and Space. *PLoS. Biol.* 6: 2650–2657.
- Jetz, W., Thomas, G. H., Joy, J. B., Hartmann, K. & Mooers, A. O.** (2012). The global diversity of birds in space and time. *Nature* 491: 444–448.
- Jetz, W., Thomas, G. H., Joy, J. B., Hartmann, K., Redding, D. & Mooers, A. O.** (2014). Distribution and conservation of global evolutionary distinctness in birds. *Current Biology* 24: 1–12.
- Jovani, R., Blas, J., Navarro, C. & Mougeot, F.** (2011). Feather growth bands and photoperiod. *J. Avian Biol.* 42: 1–4.
- Jovani, R., & Rohwer, S.** (2016). Fault bars in bird feathers: mechanisms, and ecological and evolutionary causes and consequences. *Biological Reviews*.
- Kennedy, E. A., Lattin, C. R., Romero, L. M. & Dearborn, D. C.** (2013). Feather coloration in museum specimens is related to feather corticosterone. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67: 341–348.
- Kern, M. D. & Cowie, R. J.** (2002). Ptilochronology proves unreliable in studies of nestling pied flycatchers. *Ibis* 144: 23–29.
- Knobil, E. & Neill, J. D.** (1998). The physiology of reproduction, 1, 2. New York, NY: Raven Press.
- Koren, L., NG, E. S., Soma, K. K. & Wynne-Edwards, K. E.** (2012a). Sample preparation and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for multiple steroids in mammalian and avian circulation. *PLoS One* 7: e32496.

- Koren, L., S. Nakagawa, T. Burke, K. K. Soma, K. E. Wynne-Edwards & E. Geffen** (2012b). Non-breeding feather concentrations of testosterone, corticosterone and cortisol are associated with subsequent survival in wild house sparrows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279: 1560–1566.
- Lack, D.** (1947). The significance of clutch-size. I, II. *Ibis* 89: 302–352.
- Langston, N.E. & Rohwer, S.** (1996). Molt-breeding tradeoffs in albatrosses: Life history implications for big birds. *Oikos* 76: 498–510.
- Lattin, C. R., Reed, J. M., Desrochers, D. W. & Romero, L. M.** (2011). Elevated corticosterone in feathers correlates with corticosterone induced decreased feather quality: a validation study. *Journal of Avian Biology* 42: 247–252.
- Levin, R. & Wingfield, J.** (1992). The Hormonal-Control of Territorial Aggression in Tropical Birds. *Ornis Scandinavica* 23: 284–291.
- Littin, K. E. & Cockrem, J. F.** (2001). Individual variation in corticosterone secretion in laying hens. *British Poultry Science* 42: 536–546.
- Love, O. P., Wynne-Edwards, K. E., Bond, L. & Williams, T. D.** (2008). Determinants of within-and among-clutch variation in yolk corticosterone in the European starling. *Hormones and Behavior* 53: 104–111.
- Martin, L. B., Hasselquist, D., & Wikelski, M.** (2006). Investment in immune defense is linked to pace of life in house sparrows. *Oecologia* 147: 565–575.
- Martin, L. J., Blossey, B. & Ellis, E.** (2012). Mapping where ecologists work: biases in the global distribution of terrestrial ecological observations. *Frontiers in Ecology and the Environment* 10: 195–201.
- Martin, T. E. & Schwabl, H.** (2008). Variation in maternal effects and embryonic development rates among passerine species. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 363:1663–1674.
- Martin, T. E.** (2002). A new view of avian life-history evolution tested on an incubation paradox. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* 269: 309–316.
- Martin, T. E.** (2014). A conceptual framework for clutch-size evolution in songbirds. *Am. Nat.* 183: 313–324.
- Martin, T. E.** (2015). Age-related mortality explains life history strategies of tropical and temperate songbirds. *Science* 349: 966–970.
- Mascha, E.** (1905). The Structure of Wing Feathers. *Smiths. Misc. Coll.* 48: 1–29.
- Mathew, K. L. & Naik, R. M.** (1986). Interrelation between moulting and breeding in a tropical population of the House Sparrow *Passer domesticus*. *Ibis* 128: 260–265.
- McNab, B. K.** (1997). On the Utility of Uniformity in the Definition of Basal Rate of Metabolism. *Physiological Zoology* 70: 718–720.
- Michener, H. & Michener, J. R.** (1938). Bars in Flight Feathers. *Condor* 40: 149–160.
- Minton, J. E.** (1994). Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *Journal of animal science* 72: 1891–1898.
- Møller, A. P.** (1993). Patterns of fluctuating asymmetry in sexual ornaments predict female choice. *Journal of Evolutionary Biology* 6: 481–491.
- Møller, A. P. & Nielsen, J. T.** (2017). The trade-off between rapid feather growth and impaired feather quality increases risk of predation. *J Ornithol* 159: 165–171.
- Morrison, K. W., Hipfner, J. M., Gjerdrum, C. & Green, D. J.** (2009). Wing length and mass at fledging predict local juvenile survival and age at first return in tufted puffins. *Condor* 111: 433–441.
- Morton, E. S.** (1977). Intratropical migration in the yellow-green vireo and piratic flycatcher. *Auk* 94: 97–106.
- Möstl, E., Rettenbacher S. & Palme, R.** (2005). Measurement of corticosterone metabolites in birds' droppings: an analytical approach. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1046: 17–34.
- Muñoz, A. P., Kéry, M., Martins, P. V. & Ferraz, G.** (2018). Age effects on survival of Amazon forest birds and the latitudinal gradient in bird survival. *The Auk* 135: 299–313.
- Murphy, M. E., King, J. R.** (1991). Ptilochronology: A critical evaluation of assumptions and utility. *Auk* 108: 695–704.

- Nakagawa, S. & Schielzeth, H.** (2012) A general and simple method for obtaining R^2 from generalized linear mixed-effects model. *Methods in Ecology and Evolution* 4: 2.
- Owen, D. F.** (1977). Latitudinal gradients in clutch size: an extension of David Lack's theory. B. Stonehouse & C. M. Perrins (eds) *Evolutionary ecology*. Macmillan, London 171–180.
- Owen, M. & Cook, W. A.** (1977). Variations in body weight, wing length and condition of Mallard *Anas platyrhynchos* and their relationship to environmental changes. *Journal of Zoology* 183:377–395.
- Palme, R., Rettenbacher, S., Touma, C., El-Bahr, S. M. & Möstl, E.** (2005). Stress Hormones in Mammals and Birds: Comparative Aspects Regarding Metabolism, Excretion, and Noninvasive Measurement in Fecal Samples. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1040: 162–171.
- Palmer, R. S.** (1972). Patterns of molting. *Avian Biology* 2: 65–102.
- Paradis, E., Claude, J. & Strimmer, K.** (2004). APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20: 289–290.
- Patterson, G. L., Kitaysky, A., Lyons, D. E. & Roby, D. D.** (2014). Nutritional stress affects corticosterone deposition in feathers of Caspian tern chicks. *Journal of Avian Biology* 46: 1.
- Payne, R. B.** (1972). Mechanisms and control of molting. *Avian biology* 2: 104–155.
- Pennyquick, C. J.** (2008) Modelling the flying bird. Academic, London. IN: Møller, A. P. & Nielsen, J. T. (2017). Rapid feather growth and impaired feather quality increases risk of predation. *Journal of ornithology* 159: 165–171.
- Perez, K. O. & Munch, S. B.** (2014). Sustained costs of growth and the trajectory of recovery. *Functional Ecology* 29: 3.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team** (2014). nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-118. Dostupné z: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Pianka, E. R.** (1966). Latitudinal gradients in species diversity; a review of concepts. *Amer. Nat.* 100: 33-46.
- Pitt, J. J.** (2009). Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *Clin Biochem Rev* 30: 19–34.
- Prum, R. O. & Brush, A. H.** (2003). Which came first, the feather or the bird? *Scientific American* 286: 84–93.
- Radder, R. S., Pizzatto, L. & Shine, R.** (2008). Morphological correlates of life-history variation: is lizard clutch size related to the number of germinal beds in the ovary? *Biological Journal of the Linnean Society*, 94: 81-88.
- Remeš, V. & Martin, T. E.** (2002). Environmental influences on the evolution of growth and developmental rates in passerines. *Evolution* 56: 2505–2518.
- Revell, L. J.** (2012). phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol Evol* 3:217–223.
- Ricklefs, R.** (1992). Embryonic-Development Period and the Prevalence of Avian Blood Parasites. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89: 4722–4725.
- Ricklefs, R. E. & Wikelski, M.** (2002). The physiology/life-history nexus. *Trends Ecol. Evol.* 17: 462–468.
- Riddle, O.** (1907). A study of fundamental bars in feathers. *Biol. Bull.* 14: 165–174.
- Rich, E. & Romero, L.** (2001). Daily and photoperiod variations of basal and stressinduced corticosterone concentrations in house sparrows (*Passer domesticus*). *Journal of Comparative Physiology B* 171: 543–547.
- Roberts, M. L., Buchanan, K. L., Hasselquist, D. & Evans, M. R.** (2007). Effects of testosterone and corticosterone on immunocompetence in the zebra finch. *Hormones and Behavior* 51: 126–134.
- Romero, L. M.** (2002). Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. *General and comparative endocrinology* 128: 1–24.
- Romero, L. M. & Reed, J. M.** (2005). Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 140: 73–79.
- Romero, L. M., Storchlic, D. & Wingfield, J. C.** (2005). Corticosterone inhibits feather growth: potential mechanism explaining seasonal down regulation of corticosterone during molt. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 142: 65–73.

- Romero, L. M. & Fairhurst, G. D.** (2016). Measuring corticosterone in feathers: Strengths, limitations, and suggestions for the future. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology* 202: 112–122.
- Ross, J. D., Kelly, J. F., Bridge, E. S., Engel, M. H., Reinking, D. L. & Boyle, W. A.** (2015). Pallid bands in feathers and associated stable isotope signatures reveal effects of severe weather stressors on fledgling sparrows. *PeerJ* 3: 814.
- Russell, E. M.** (2000). Avian life histories: Is extended parental care the southern secret? *Emu* 100: 377–399.
- Russell, E. M., Yom-Tov, Y. & Geffen, E.** (2004). Extended parental care and delayed dispersal: northern, tropical, and southern passerines compared. *Behav. Ecol.* 15: 831–838.
- Salthe S. N.** (1969). Reproductive modes and the number and size of ova in the Urodeles. *American Midland Naturalist* 81: 467–490.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M. & Munck, A. U.** (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr. Rev.* 21: 55–89.
- Senar, J. C., Domench, J. & Uribe, F.** (2002). Great Tits (*Parus major*) reduce body mass in response to wing area reduction: a field experiment. *Behavioural Ecology* 13: 725–727.
- Sheriff, M. J., Dantzer, B., Delehanty, B., Palme, R. & Boonstra, R.** (2011). Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia*, 166: 869–887.
- Silverin, B., Arvidsson, B. & Wingfield, J.** (1997). The adrenocortical responses to stress in breeding Willow Warblers *Phylloscopus trochilus* in Sweden: Effects of latitude and gender. *Funct. Ecol.* 11: 376–384.
- Skutch, A. F.** (1949). Do tropical birds rear as many young as they can nourish? *Ibis* 91: 430–455.
- Skutch, A. F.** (1976). *Parent Birds and Their Young*, Univ. of Texas Press
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J.** (1981). *Biometry*. W.H. Freeman and Company, New York.
- Sol, D., Maspons, J., Gonzalez-Voyer, A., Morales-Castilla, I., Garamszegi, L. Z. & Møller, A. P.** (2018). Risk-taking behavior, urbanization and the pace of life in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 72:59.
- Staub, N. L. & DeBeer, M.** (1997). The role of androgens in female vertebrates. *Gen. Comp. Endocrinol.* 108: 1–24.
- Stoffel, M. A., Nakagawa, S. & Schielzeth, H.** (2017). rptR: repeatability estimation and variance decomposition by generalized linear mixed-effects models.
- Stratford, J. A. & Stouffer, P. C.** (2001). Reduced feather growth rates of two common birds inhabiting Central Amazonian forest fragments. *Conservation Biology* 15: 721–728.
- Stutchbury, B. J. M. & Morton, E. S.** (2001). *Behavioral Ecology of Tropical Birds*. Academic Press, San Diego.
- Swaddle, J. P. & Witter, M. S.** (1994). Food, feathers and fluctuating asymmetries. *Proceedings of the Royal Society of London, series B, Biological Sciences* 225: 147–152.
- Trevelyan, R., Harvey, P. H. & Pagel, M. D.** (1990). Metabolic Rates and Life Histories in Birds. *Funct. Ecol.* 4: 135–141.
- Vágási, C. I., Pap, P. L., Vincze, O., Benkő, Z., Marton, A. & Barta, Z.** (2012). Haste makes waste but condition matters: molt rate–feather quality trade-off in a sedentary songbird. *PLoS One* 7: e40651.
- Valcu, M., Dale, J., Griesser, M., Nakagawa, S. & Kempenaers, B.** (2014). Global gradients of avian longevity support the classic evolutionary theory of ageing. *Ecography* 37: 930–938.
- Wagner, H. O.** (1957). **Variation in Clutch Size at Different Latitudes.** *The Auk* 74: 243–250.
- Wang, Z., Pang, X., Wu, W., Wang, J., Wang, Z. & Wu, R.** (2014). Modeling phenotypic plasticity in growth trajectories: A statistical framework. *Evolution* 68: 81–91.
- White, C.R., Blackburn, T.M., Martin, G.R. & Butler, P.J.** (2007). The basal metabolic rate of birds is associated with habitat temperature and precipitation, not productivity. *Proceedings of the Royal Society B* 274: 287–293.
- Wiersma, P. & Verhulst, S.** (2005). Effects of intake rate on energy expenditure, somatic repair and reproduction of zebra finches. *The Journal of Experimental Biology*. 208: 4091–4098.
- Wiersma, P., Munoz-Garcia, A., Walker, A. & Williams, J. B.** (2007). Tropical birds have a slow pace of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104: 9340–9345.

- Wiersma, P., Nowak, B. & Williams, J. B.** (2012). Small organ size contributes to the slow pace of life in tropical birds. *J. Exp. Biol.* 215: 1662–1669.
- Winkler, R. & Jenni, L.** (2009). Určování stáří a pohlaví evropských pěvců. Společnost spolupracovníků Kroužkovací stanice Národního muzea, Praha.
- Wikelski, M., Hau, M. & Wingfield, J. C.** (1999). Social instability increases plasma testosterone in a year-round territorial neotropical bird. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* 266: 551–556.
- Wikelski, M., Spinney, L., Schelsky, W., Scheuerlein, A. & Gwinner, E.** (2003). Slow pace of life in tropical sedentary birds: a common-garden experiment on four stonechat populations from different latitudes. *Proc R Soc Lond B* 270: 2383–2388.
- Will, A. P., Suzuki, Y., Elliott, K. H., Hatch, S. A., Watanuki, Y. & Kitaysky, A. S.** (2014). Feather corticosterone reveals developmental stress in seabirds. *J Exp Biol.* 217: 2371–2376.
- Williams, J. B., Miller, R. A., Harper, J. M. & Wiersma, P.** (2010). Functional Linkages for the Pace of Life, Life-history, and Environment in Birds. *Integr. Comp. Biol.* 50: 855–868.
- Witter, M.S., Cuthill, I.C. & Bonser, R.H.C.** (1994). Experimental investigations of mass-dependent predation risk in the European starling, *Sturnus vulgaris*. *Anim Behav.* 48: 201–222.
- Wood, H. B.** (1950). Growth bars in feathers. *Auk* 67: 486–491.
- Yalow, R. S. & Berson, S. A.** (1960). Plasma insulin concentrations in nondiabetic and early diabetic subjects: determinations by a new sensitive immunoassay technic. *Diabetes* 9: 254–260.
- Young, B. E.** (1996). An experimental analysis of small clutch size in tropical House Wrens. *Ecology* 77: 472–488.

Přílohy

Příloha 1. Kód fylogenetického stromu ve formátu Newick.

```
((Platysteira_concreta:39.21915371731144,(Terpsiphone_rufiventer:11.147131036975388,Trochocercus_ni  
tens:11.147131036959298):28.0720226804307):11.195243270060004,((((Phylloscopus_collybita:29.69104  
627165,(Riparia_riparia:18.928431778525006,(Hirundo_rustica:16.151783168386245,Delichon_urbicum:16  
.151783168441252):2.776648609953746):10.762614493225005):3.6884468532299977,(((Sylvia_atricapilla:  
10.870423038750005,Sylvia_borin:10.870423039050007):14.205635454499998,(Acrocephalus_scirpaceus:  
9.690911088645493,Acrocephalus_schoenobaenus:9.69091108871):15.385147404450002):6.35050241984  
9999,Andropadus_tephrolaemus:31.42656091286001):1.9529322120799968):3.916793022605006,Panuru  
s_biarmicus:37.296286147870006):4.8859085416982,(Parus_caeruleus:18.927758811349996,Parus_major:  
18.92775881116501):23.25443587833204):2.3871359602367974,((((((Turdus_philomelos:13.49531021590  
0002,Turdus_merula:13.495310216093504):12.458735522050002,((Ficedula_albicollis:15.69332975351999  
7,Phoenicurus_ochruros:15.693329753593005):0.9502523485249981,Erithacus_rubecula:16.64358210198  
5004):9.310463636005004):2.4443896625349986,Cinclus_cinclus:28.398435400585008):10.555627243849  
802,Certhia_familiaris:38.954062643934805):4.726105679565194,((((((((Carduelis_cannabina:8.56551414  
5000002,Serinus_serinus:8.5655141449434):0.4955380417499953,(Linurgus_olivaceus:7.14459254650000  
7,Carduelis_carduelis:7.144592546540011):1.9164596402499932):2.2039572187000083,Carduelis_chloris:  
11.265009405549996):14.585353486249993,Fringilla_coelebs:25.850362891499994):1.417697418021099,  
(Emberiza_citrinella:12.933244867235597,Emberiza_schoeniclus:12.9332448672967):14.33481544247630  
2):2.9781423141389034,(Motacilla_cinerea:4.401610300125952,Motacilla_alba:4.401610300009992):25.8  
44592323560008):1.5089032549800017,(Passer_montanus:6.791812800887442,Passer_domesticus:6.791  
8128008025):24.963293077545007):3.7363627690999976,((Euplectes_capensis:11.705606970077707,Ploc  
eus_melanogaster:11.705606970152704):9.956178135972301,(Spermophaga_haematina:11.99779501517  
5004,Cryptospiza_reichenovii:11.997795015175004):9.663990090950005):13.829683541614997):3.943459  
742889999,(Nectarinia_preussi:18.432539865440447,(Nectarinia_oritis:10.404175066693991,Nectarinia_o  
livacea:10.404175066593993):8.028364798678606):21.0023885251574):4.245239932969994):0.88916232  
60200063):5.84506633793);
```

Příloha 2. Tabulka ptilochronologických údajů a dalších proměnných použitých při ptilochronologických analýzách 41 druhů pěvců. Tabulka udává průměrné hodnoty na druh. Bird tree = název druhu podle <https://birdtree.org> (8.8.2018), Avibase = název druhu podle <https://avibase.bsc-eoc.org> (8.8.2018), BM = tělesná hmotnost, FM = hmotnost pera, FL = délka pera, RL = délka rhachis, GR = růstová rychlost rhachis, GT = doba růstu rhachis.

Bird tree	Avibase	BM (g)	FM (mg)	FL (mm)	RL (mm)	GR (mm/den)	GT (dny)
<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	12.300	4.707	54.244	48.416	2.536	19.131
<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>	<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>	11.200	4.581	51.743	46.039	2.512	18.724
<i>Andropadus tephrolaemus</i>	<i>Arizelocichla tephrolaema</i>	39.500	19.810	83.175	75.192	2.956	25.599
<i>Carduelis cannabina</i>	<i>Linaria cannabina</i>	20.500	7.267	59.028	52.357	2.447	21.825
<i>Carduelis carduelis</i>	<i>Carduelis carduelis</i>	16.750	6.621	54.896	48.295	2.520	19.332
<i>Carduelis chloris</i>	<i>Chloris chloris</i>	25.500	8.542	59.472	52.714	2.483	21.939
<i>Certhia familiaris</i>	<i>Certhia familiaris</i>	8.000	5.925	55.120	48.683	2.398	20.454
<i>Cinclus cinclus</i>	<i>Cinclus cinclus</i>	53.000	14.280	59.109	51.546	2.422	21.427
<i>Cryptospiza reichenovii</i>	<i>Cryptospiza reichenovii</i>	12.500	3.150	38.870	33.915	1.691	20.260
<i>Delichon urbicum</i>	<i>Delichon urbicum</i>	16.650	8.924	62.004	55.542	2.419	23.188
<i>Emberiza citrinella</i>	<i>Emberiza citrinella</i>	28.250	16.125	74.975	72.363	3.327	21.923
<i>Emberiza schoeniclus</i>	<i>Schoeniclus schoeniclus</i>	19.000	10.610	68.622	61.261	2.770	22.956
<i>Erithacus rubecula</i>	<i>Erithacus rubecula</i>	19.500	5.546	62.506	55.745	2.630	21.307
<i>Euplectes capensis</i>	<i>Euplectes capensis</i>	27.500	5.529	46.219	40.829	2.087	19.699
<i>Ficedula albicollis</i>	<i>Ficedula albicollis</i>	12.000	5.409	55.621	49.269	2.614	18.977
<i>Fringilla coelebs</i>	<i>Fringilla coelebs</i>	23.000	10.884	70.629	63.898	2.966	21.815
<i>Hirundo rustica</i>	<i>Hirundo rustica</i>	20.000	10.333	67.812	60.053	2.744	22.478
<i>Linurgus olivaceus</i>	<i>Linurgus olivaceus</i>	23.750	7.517	53.368	47.377	2.198	21.794
<i>Motacilla alba</i>	<i>Motacilla alba</i>	20.875	12.900	90.209	82.551	2.916	28.796
<i>Motacilla cinerea</i>	<i>Motacilla cinerea</i>	17.750	10.211	100.237	92.914	3.044	31.254
<i>Nectarinia olivacea</i>	<i>Cyanomitra olivacea</i>	9.375	3.627	46.297	41.246	1.959	21.228
<i>Nectarinia oritis</i>	<i>Cyanomitra oritis</i>	11.050	3.627	41.446	36.836	1.855	20.018
<i>Nectarinia preussi</i>	<i>Cinnyris reichenowi</i>	7.500	2.525	40.007	34.981	1.684	21.056
<i>Panurus biarmicus</i>	<i>Panurus biarmicus</i>	15.900	5.882	59.952	51.374	2.478	20.953
<i>Parus caeruleus</i>	<i>Cyanistes caeruleus</i>	11.100	5.020	56.039	50.109	2.607	19.531
<i>Parus major</i>	<i>Parus major</i>	17.000	8.443	66.722	59.993	2.885	20.893
<i>Passer domesticus</i>	<i>Passer domesticus</i>	29.500	11.279	62.756	55.728	2.862	19.699
<i>Passer montanus</i>	<i>Passer montanus</i>	23.500	8.260	56.870	50.272	2.859	17.795
<i>Phoenicurus ochruros</i>	<i>Phoenicurus ochruros</i>	16.000	7.509	63.920	56.982	2.832	20.313
<i>Phylloscopus collybita</i>	<i>Phylloscopus collybita</i>	8.950	3.124	50.861	45.854	2.348	19.694
<i>Platysteira concreta</i>	<i>Dyaphorophya concreta</i>	10.250	1.589	27.903	23.781	1.288	18.975
<i>Ploceus melanogaster</i>	<i>Ploceus melanogaster</i>	24.000	6.731	53.183	46.487	2.082	22.555
<i>Riparia riparia</i>	<i>Riparia riparia</i>	15.250	6.630	57.280	51.040	2.262	22.749
<i>Serinus serinus</i>	<i>Serinus serinus</i>	11.250	4.911	52.345	46.653	2.351	20.004
<i>Spermophaga haematina</i>	<i>Spermophaga haematina</i>	23.000	7.400	52.941	47.588	1.894	25.287
<i>Sylvia atricapilla</i>	<i>Sylvia atricapilla</i>	19.750	7.006	63.732	57.451	2.897	20.073
<i>Sylvia borin</i>	<i>Sylvia borin</i>	19.000	6.170	60.000	54.320	2.896	18.989
<i>Terpsiphone rufiventer</i>	<i>Terpsiphone rufiventer</i>	16.500	10.231	75.868	68.561	2.980	23.150
<i>Trochocercus nitens</i>	<i>Trochocercus nitens</i>	11.800	7.029	64.163	56.826	2.311	25.019
<i>Turdus merula</i>	<i>Turdus merula</i>	95.000	43.184	109.032	98.679	4.057	24.518
<i>Turdus philomelos</i>	<i>Turdus philomelos</i>	78.500	24.540	88.267	79.310	3.625	22.196